This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.

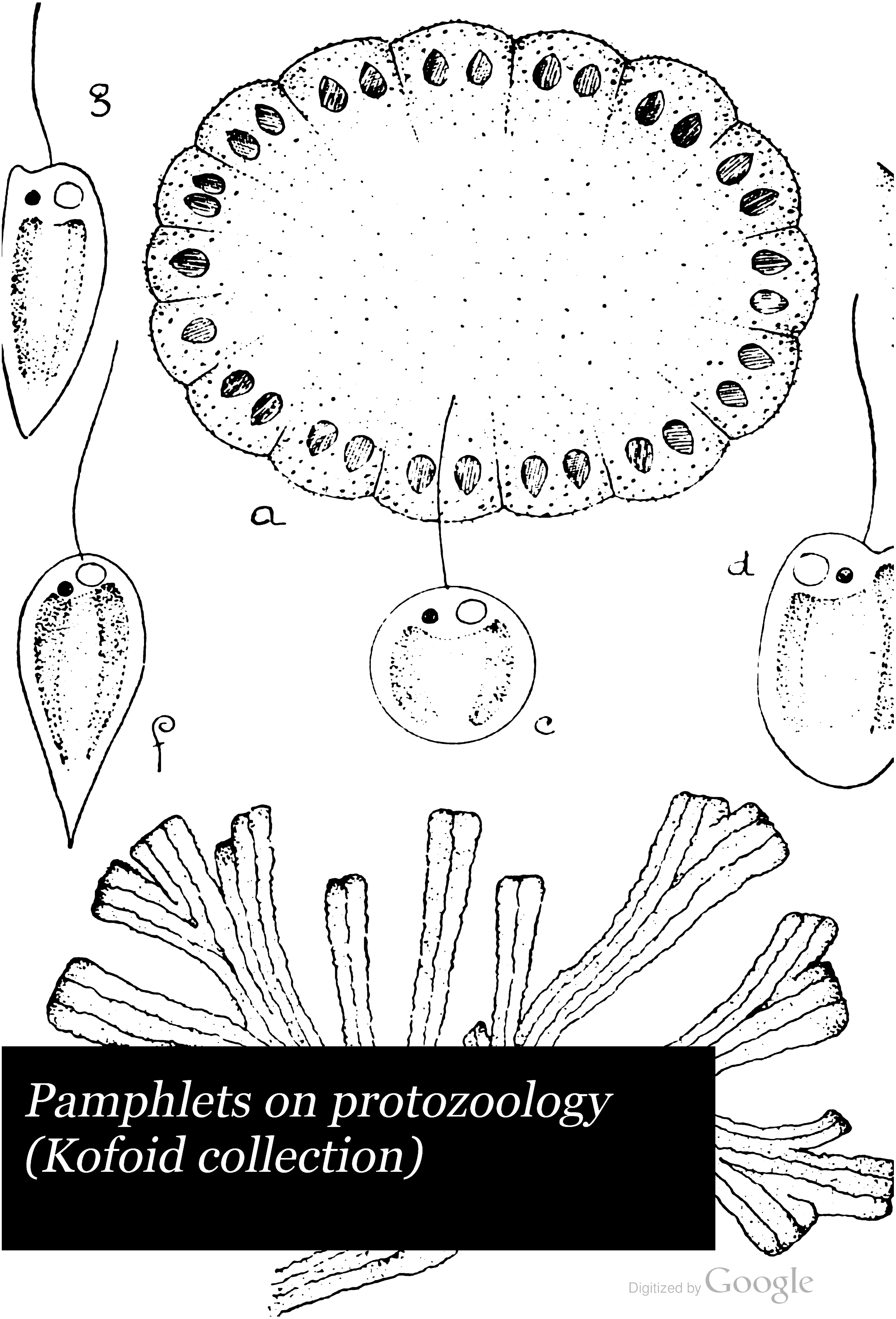
+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.

+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.

+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`



Pamphlets on protozoology (Kofoid collection)

BERKELEY
LIBRARY
UNIVERSITY OF
CALIFORNIA

BIOLOGY LIBRARY

LIBRARY [illegible]

ttaluga, G.
105

①

SOBRE LOS CARACTERES MORFOLÓGICOS

Y LA

CLASIFICACIÓN DE LOS "TRYPANOSOMAS„

POR EL

DR. GUSTAVO PITTALUGA

PUBLICADO EN LA «REVISTA DE LA REAL ACADEMIA DE CIENCIAS
EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES DE MADRID». TOMO II.—NÚM. 3.—ABRIL 1905.

MADRID
IMPRENTA DE LA «GACETA DE MADRID».
CALLE DE PONTEJOS, NÚM. 8.
1905

SOBRE LOS CARACTERES MORFOLÓGICOS

Y LA

CLASIFICACIÓN DE LOS "TRYPANOSOMAS„

POR EL

DR. GUSTAVO PITTALUGA

PUBLICADO EN LA «REVISTA DE LA REAL ACADEMIA DE CIENCIAS
EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES DE MADRID». TOMO II.—NÚM. 3.—ABRIL, 1905.

MADRID
IMPRENTA DE LA «GACETA DE MADRID».
CALLE DE PONTEJOS, NÚM. 8.
1905

SOBRE LOS CARACTERES MORFOLÓGICOS

Y LA CLASIFICACIÓN DE LOS «TRYPANOSOMAS»

Gruby (1) en el año 1843 dió el nombre de *Trypanosoma (Trypanosoma sanguinis)* á una forma de parásito encontrado en la sangre de la Rana *(R. esculenta)*, y descrito más tarde por **Ray Lankester** (1871) (2) con el sinónimo de *Undulina ranarum;* forma que **Wedl** (3) observó en las aves, llamándola *Globularia*, y **Mitrophanow** encontró en los peces é indicó con el nombre de *Haematomonas* (4).

Queda, por tanto, establecido que el género *Trypanosoma* fué determinado, y su nombre creado por **Gruby**, refiriéndose á un «microorganismo flagelado, parásito de la sangre de vertebrados». Los nombres genéricos *Undulina* (R. **Lankester**), *Globularia* (**Wedl**), *Haematomonas* (**Mitrophanow**), así como el de *Paramecioides* (**Grassi**, 1881), son posteriores, y deben descartarse por completo.

Por lo que se refiere al nombre específico *Trypanosoma sanguinis* para el *Trypanosoma* de la sangre de *Rana esculenta*, es preciso recordar que **Mayer**, contemporáneamente con **Gruby**, describió la especie con el nombre de *Amœba ro-*

---

(1) **Gruby**. — Une nouvelle espèce d'Hématozoaires (*C. R. Acad. Sciences*, 17, 1843; y también *Ann. des Sciences Nat.*, página 104, 1843).

(2) **Ray Lankester**. — (In *Quarterly Journ. of Microscop. Science*, 1871 passim; y Protozoa, *Encycloped. Britann.* 1885.)

(3) Cit. en **Bütschli**, Tierreich, I, Protozoa, 1883-87; y **Delage**, Zoologie concrète, I, Index, pág. 581 (La cellule et les protozoaires).

(4) V. **Mitrophanow**.—Beiträge zur kenntnis des Haematozoa (*Biolog. Centralblatt*, v. III, pág. 35-44, 1883).

tatoria (1); *Trypanosoma sanguinis*, GRUBY, 1843, y *Trypanosoma rotatorium*, MAYER, 1843 (emend. LAVERAN y MESNIL), son por tanto sinónimos, é indican el mismo «microorganismo flagelado, parásito de la sangre de *Rana esculenta*». Aunque algunos autores, que sostienen la prioridad de MAYER en el descubrimiento, adoptan desde pocos años el nombre de *Tr. rotatorium*, creemos conveniente conservar á la especie la denominación clásica de GRUBY. Sin embargo, tanto la observación de MAYER como la de GRUBY habían sido precedidas por las de GLUGE (2), también en los batracios, y la de VALENTÍN (1841), que había descrito un protozoo (identificable con el género *Trypanosoma)* como parásito en la sangre de *Salmo fario* (3).

Desde aquellas fechas, á pesar de que han transcurrido largos períodos de interrupción y olvido, los estudios acerca de estas formas parásitas han ido acumulándose, y se han modificado y completado nuestros conocimientos morfológicos sobre las distintas especies de que se compone el gén. *Trypanosoma*, determinándose además sus caracteres biológicos y lugar que les corresponde en la sistemática; hasta llegar á estos últimos años en que las observaciones que se refieren á estos parásitos han despertado interés extraordinario, por ser causa de enfermedades en los animales domésticos y en el hombre.

Es mi propósito examinar en esta nota, aunque someramente, los caracteres genéricos y específicos de las formas

---

(1) MAYER.—De organo electrico et de Haematozois. (Bonn, 1843).

(2) *Müller's Archiv.*, t. IX, 1842, p. 148.

(3) V. DÖFLEIN.—Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger nach Biologisch. Geschischtpunkter dargestellt, Iena, 1 vol. con láminas, 1901

LAVERAN y MESNIL han publicado recientemente una extensa Monografía «Trypanosomes et Trypanosomiases», Masson ed., que no he podido consultar hasta la fecha en que comunico los resultados de mi estudio. Las conclusiones de este trabajo deben, por tanto, considerarse como independientes de las del libro de LAVERAN y MESNIL que se comprenden bajo el nombre de *Trypanosoma*, y reuniendo los datos establecidos hasta la fecha por los varios observadores, sentar algunos conceptos para intentar su clasificación en la serie zoológica, entre los Protozoos plasmodromos.

I

Después de las primeras observaciones de **Valentín**, **Gluge**, **Mayer** y **Gruby**, si se exceptúa una breve comunicación de **Vulpian** (1) en 1854, no encontramos otras, que se refieran á los Trypanosomas de los vertebrados, antes de las importantísimas llevadas á cabo durante el año 1878 por **Lewis** en los ratones de Calcutta, y que dieron comienzo á los estudios sucesivos sobre estas formas parasitarias en los mamíferos.

Sin embargo, **Rättig** (2) y **Gaule** (3) repitieron y comprobaron las precedentes observaciones sobre los Trypanosomas de los batracios, y describieron con esta ocasión formas distintas de las que parecían caracterizar la especie creada por **Gruby**, interpretándolas en parte como variedades; pero por otro lado, adelantando la duda de si semejantes cuerpos protoplásmicos, hallados en la sangre de las Ranas, podrían ser glóbulos blancos deformados, ó quizás en período de evolución.

---

(1) **Vulpian.**—Note sur les Hématozoaires filiformes de la grenouille commune (*C. R. Soc. Biologie,* París, II serie, t. I, página 128, 1854).

(2) **Rattig.**—Ueber Parasiten der Froschbluten (*Inaug. Dissert* , 1879, Iena).

(3) **Gaule.** - Beobachtungen der Farblosen Elemente der Froschblutes (*Arch. Physiolog.*, 1880, pág. 57.—Idem *Centralblatt für die medicinischen Wissenchaft.*, núm. 31, 1881).

Este autor (**Gaule**) llamó con el nombre de «*Cytozoa*» todas las formas que hoy van comprendidas, en parte, en el orden «*Hæmosporidia*» (clas. *Sporozoa*); en parte, en el de «*Gymnosporidia*» (según **Labbé**, *Tierreich*, 1898), y además los flagelados del gén. *Trypanosoma* y otros. (V. **Gaule**, *Arch. Phys.*, 1881, págs. 297-316.—Idem *Tageblatt der Versammlung. Gesellschaft Deutsch. Naturf. und Aerzte Strassburg*, 1886, pág. 345.)

Casi contemporáneamente, ó poco después (1881), Grassi publicaba una importante Memoria acerca de «*Protozoos parásitos*» (1). En ella, después de haber intentado el autor una clasificación de las familias, daba cuenta de sus personales investigaciones acerca de muchas especies endoparasíticas, y á propósito de la familia «*Trypanosómota*», ya creada por Kent (2), comunicaba: 1.°, haber encontrado formas correspondientes al gén. *Trypanosoma* (*Tr. sanguinis* Gruby, sinónimo *Undulina Ranarum* R. Lankester), hasta entonces descrito tan sólo como parásito de la especie *Rana esculenta*, también en *Hyla viridis* y *Bufo vulgaris;* 2.°, haber determinado la existencia de formas pertenecientes á otro género, cuyo nombre crea, comprendiendo en ellas las descritas por Kent (*loc. cit.*) bajo el nombre *Trypanosoma Eberthi:* género *Paramœcioides*, n. sp. *Paramœcioides costatum,* en *Rana esculenta*, con exclusión de otros batracios en que podían encontrarse con relativa abundancia las formas del género *Trypanosoma* (3).

Añadía Grassi que la forma *Paramœcioides* no podía considerarla como representante un período evolutivo (ó involutivo) del género *Trypanosoma*, por cuanto este último se encuentra comúnmente en las especies *Hyla viridis*, *Bufo vulgaris*, *Rana temporaria*, en que falta por completo la forma antedicha. Loscaracteres del gén. *Paramœcioides* eran, según las observaciones del autor en la fecha indicada (1881), «presencia de una membrana ondulante *sin rudimento ninguno de flagelo;* un margen cóncavo, otro convexo, las caras laterales con líneas ó *costas;* dimensiones medias 30 μ».

---

(1) B. Grassi.—*Intorno ad alcuni protisti endoparassitici ed appartenenti alle classi dei Flagellati, Lobosi, Sporozoi e Ciliati.* Memoria di Parassitologia comparata per il Dott. B. Grassi da Rovellasca. (*Atti della Società italiana di Scienze naturali*, volumen XXIV, 1881.)

(2) Kent.—A Manual of the Infusoria, 1880-81.

(3) Grassi, Loc. cit., pág. 44. «5.ª familia: *Trypanosomata* (Kent); gén. *Trypanosoma* (*T. Sanguinis* Gruby); [Traducción textual del italiano]. Esta especie había sido encontrada tan sólo en la *Rana esculenta;* yo la vi muchas veces también en *Hyla viridis* y *Bufo vulgaris,* tanto en Rovellasca como en Pavía.» «En la sangre de *Rana esculenta* he descubierto además ciertas formas, que podrían ser *Trypanosomas* jóvenes: son cuerpos esféricos, en una porción de cuya superficie se destaca una membrana ondulante muy estrecha y sutil, que acaba en un flagelo. No puede excluirse la duda de que se trate más bien que de jóvenes *Trypanosomas,* de formas jóvenes del género *Paramœcioides.*»

Veremos más adelante en qué sentido deben interpretarse hoy día semejantes observaciones.

Entretanto, LEWIS (1), en el año 1878, según queda dicho anteriormente, y GRIFFITH EVANS (2) en 1880, encontraban por vez primera los *Trypanosoma* en la sangre de mamíferos.

LEWIS, sobre 100 ratas y ratones examinados en Calcutta (Indias inglesas), pertenecientes á las especies *Mus decumanus* y *Mus rufescens,* observó 29 veces en la sangre microorganismos flagelados, móviles, que poco más tarde KENT (loc. cit.) llamó *Herpetomonas lewisi* (cambiado luego en *Trypanosoma lewisi).*

EVANS, inspector veterinario del ejército inglés en las Indias, publicó en 1880 una extensa Memoria sobre una enfermedad de los caballos, caracterizada por la presencia de parásitos flagelados en la sangre periférica y de los órganos. En esta Memoria, por todo concepto interesante, puesto que abre el ca mino para los estudios sobre las acciones patógenas de los *Trypanosomas*, EVANS, sin llegar á la exacta determinación de la especie, adelantaba, sin embargo, datos y noticias muy importantes y completas acerca de los caracteres morfológicos de los cuerpos hallados en la sangre de los caballos enfermos, comparándolos con los encontrados y descritos por LEWIS, dos años antes, en los ratones.

---

(1) LEWIS.—Flagellated organisms in the blood of healthy rats (*Append. XIV Annual Reports of Sanitary Commiss, India,* 1878).

(2) EVANS G.—Report on «surra» disease in the Dera Ismail Khan District (*Military Departement*, 13 Nov. 1880).—IDEM. On a horse disease in India Known as «surra» probably due to a haematozoon (*The Veterinary journal,* 1881, pág. 1; 1882, pág. 97).

Sólo cinco años más tarde, en 1885, **Steel**, como resultado de acabadas investigaciones que pudo llevar á cabo en ocasión de haberse desarrollado en forma gravemente epidémica esta enfermedad *(Surra)* entre las caballerías de un Cuerpo de expedición inglés en Birmania, publicó una descripción más detallada y comunicó con mayor acierto los caracteres del germen patógeno (1). De gran interés histórico es para nosotros recordar que este investigador, en su Memoria ahora citada, fundándose en esos caracteres morfológicos de los microorganismos hallados en la sangre de los animales infectados, creyó poder aproximar su estructura á la del género *Spirochæte* (*S. obermeieri*, *S. anserina*), y llamarlo *Spirochæte evansi*, nombre que fué corregido poco después, cambiándose en *Trypanosoma evansi*.

De todos modos, la prioridad de la interpretación morfológica y biológica pertenece á **Steel**, así como pertenece á **Griffith Evans** la prioridad del descubrimiento, de la observación objetiva y hallazgo de los Trypanosomas como causa de enfermedad.

Decíamos hace poco que la interpretación de **Steel** es de gran interés histórico y merece fijar toda nuestra atención, puesto que corresponde con admirable intuición de la verdad á los hechos recientemente establecidos por **Schaudinn**, sobre los cuales tendremos ocasión de volver más adelante, y que, sin duda, serán llamados á despertar largas discusiones, á determinar comprobaciones, ensayos é investigaciones numerosas, y quizás á introducir radicales modificaciones en nuestros actuales conocimientos acerca de las relaciones existentes entre el género *Trypanosoma* y las formas endoglobulares consideradas como esporozoos, y descritas como *bonæ species* en la sangre de vertebrados; y por otra parte con las del género *Spirochaete*, hasta ahora clasificadas entre las bacterias (2).

---

(1) **Steel**. — Investigation into an obscure and fatal disease among transport mules in British Burmah, 1885.

(2) **Fritz Schaudinn** (Rovigno). – Generations und Wirtsweschel bei *Trypanosoma* und *Spirochæte* (*Arbeiten aus dem Kaiserlisch. Gesundheitsamte*, t. XX, f. 3., 1904; p. 387, 20 fig. in text.)

Los primeros ensayos de clasificación de estos parásitos los intentaron KENT (loc. cit.); RAY LANKESTER (1); GRASSI, en la Memoria antes recordada; luego FISCH (2) en confirmación de los estudios de GRASSI, y DANILEWSKY (3), al encontrarse en la sangre de las aves con una complicación imprevista de formas protozoáricas distintas y coexistentes en un mismo huésped; SEELIGER, BÜTSCHLI, BLANCHARD. Desde luego, las tentativas de clasificación de estos autores no podrían aceptarse hoy día; pero no podemos olvidarlas ni desestimarlas en lo que han contribuído á fijar los caracteres genéricos y específicos en relación con las agrupaciones taxonómicas de la clase y del tipo zoológico.

Los ulteriores descubrimientos y las numerosísimas observaciones publicadas en estos últimos años sobre los *Trypanosoma* de los mamíferos, de las aves, y las nuevas formas encontradas en batracios y peces, han establecido la existencia de muchas especies, y probablemente de algunas variedades, debidas á la adaptación por la vida parasitaria en distintos animales superiores y en el hombre; han despertado además un vivo interés para el examen detenido y definitiva revisión de los caracteres morfológicos y biológicos del género (*Trypanosoma*) y de formas afines, como las nuevamente determinadas del gén. *Trypanoplasma*, las comprendidas bajo el nombre *Herpetomonas* y otras.

De los resultados de las investigaciones sucesivas á las de EVANS (1882), no me es preciso dar cuenta detallada en este lugar. Así como el nombre de GRUBY va junto con el recuerdo de la definición primera del género *Trypanosoma* y de su hallazgo en la sangre de los vertebrados (Rana, 1843), y el de

---

(1) RAY LANKESTER (*Quaterly Journ. of Microsc. Science*, n. s. 1882, pág. 53-65).—Id. *Protozoa* (*in Encyclop. británica*, 1885).

(2) C. FISCH. — Untersuchungen über einige Flagellaten und verwandte Organismen (*Zeitschr für wissenschaft. Zoolog.*, volumen XXXXII, p. 47, lám. 1-6, 1885).

(3) DANILEWSKY. — Zur parasitologie des Blutes (*Biologisches Centralblatt*, v. V, pág. 529-537, 1885).

Lewis, con la primera observación de estos parásitos en los mamíferos (Ratón, 1878), sin que hasta entonces se sospechara la posibilidad de una acción patógena en los animales domésticos y en el hombre, así el nombre de **Evans** queda ligado con la determinación de este papel patógeno en la raza equina (1880-82). Estas tres fechas son muy importantes en el proceso histórico de los estudios biológicos acerca de los *Trypanosomas*.

En el año 1882, **Kunstler** (1) consignó la presencia de *Trypanosomas* en los cobayos; **Jolyet** y **Nabias** los habían encontrado y descrito en la sangre del conejo (2), siendo confirmada más tarde, y precisamente en estos últimos años, esta observación por las de **Bosc** (3), **Petrie** (4) (1904) y otros.

Entre tanto, **Danilewsky** daba cuenta del hallazgo de un *Trypanosoma sanguinis avium*, cuya presencia en la sangre de las aves (gén. *Alauda*, *Athene*, *Columba*, etc.) fué comprobada por las sucesivas investigaciones de **Laveran**, **Mesnil**, **Leger**, **Hanna**, **Tiroux** y otros.

En su importante estudio sobre los *Trypanosomas* de las aves (5), **Danilewsky** adelantó pormenores y detalles de gran interés acerca de las distintas fases de reproducción agámica de los parásitos, describiendo una forma de *Trypanomonas*, como precedente á la que corresponde al período de desarrollo definitivo de las formas trypanosómicas (Trypanosomas adultos (1).

---

(1) I. **Kunstler**. — Contribution à l'étude des Flagellés. (*Bulletin Soc. Zoolog. de France*, pág. 112, 1882; y pág. 230, 1882.)

(2) Cit. por **Perroncito**. — I parassiti dell'uomo e degli animali utili, 1901, pág. 158.

(3) F. I. **Bosc**. — Recherches sur la structure et l'appareil nucléaire des *Trypanosomes* (A propos d'un Trypanosome observé chez le lapin).—(*Arch. für Protistenkunde*, t. V, 1904; pág. 40, con 68 fig. en el texto.)

(4) G. F. **Petrie**. — A note on the ocurrence of a Trypanosome in the rabbit (*Centralblatt für Bakter*, I, Orig., t. XXXV, 16 Enero 1904, p. 484).

(5) **Danilewsky**.—La parasitologie comparée du Sang - Nouvelles recherches sur les parasites du sang des oiseaux (*con 3 láminas*, Charcof, 1889).

Durante los años que van desde 1895 hasta 1901, tres descubrimientos importantes deben señalarse en lo que se refiere á la acción patógena de los *Trypanosomas* en los animales domésticos (2). En 1895, **Bruce** (3) reconoció estos parásitos en la sangre de caballos, mulos y asnos atacados por una enfermedad endémica en algunas regiones africanas, y conocida con el nombre de «nagana». Los estudios posteriores de **Plimmer** y **Bradford** (4) determinaron los caracteres específicos de estos *Trypanosomas*, constituyéndose la nueva especie *Trypanosoma Brucei* (Tr. de la mosca tsé-tsé).

Chauvrat (5) y **Rouget** (6), casi contemporáneamente

---

(1) No me detengo en lo más mínimo en hacer la historia de las observaciones llevadas á cabo sobre los *Trypanosomas* en los *invertebrados*. Especies dudosas todas ellas, ni siquiera pueden proporcionarnos elementos de comparación con las formas parásitas de *vertebrados*, para llegar á alguna conclusión filogenética.— Cfr., por ejemplo: **Certes**.— Sur le *Tryponosoma Balbianii* (*Bulletin Soc. Zoolog. de France*, vol. XVI, p. 95 y 130, 1891). — **Möbius K.** — *Trypanosoma Balbianii* **Certes** in Krystallstiel Schleswig-holsteinrscher Austern (*Zoologisch. Anzeiger*, vol. VI, página 148, 1883)—y otros autores, que han determinado algunas especies en el tubo digestivo y distintos órganos de moluscos del gén. *Ostrea*, *Tapes*, así como en *Pontobdella*, *Pyxicola*, etc.

V. **Ives Delage**. — Traité de Zoolog. Concrète, vol. I, Protoz., pág. 328.

(2) **Ed. Nocard** y **E. Leclainche**. — Les maladies microbiennes des animaux. — Dos tomos. — París, Masson, ed., 1903.

(3) **Bruce**. — Preliminary Report in the Tsetsé fly Disease or Nagana in Zululand, Ubombo. — Durban, 1895.

(4) **Plimmer** y **Bradford**. — A preliminary note on the Morphology and Distribution of the Organism found in the Tsetsé fly disease (*The Veterinarian*, t. LXXII, 1889, pág. 648).

Idem id. — Vorlaüfige Notiz über die Morphologie und Verbreitung der in der Tsetsé-Krankheit gefunden Parasiten (*Centralbl. f. Bakter. u. Paras.*, etc., 1899, XXVI, 1).

(5) **Chauvrat**.—Anémie pernicieuse du cheval en Algérie, causée par un Trypanosome (*Recueil de Méd. vétérinaire*, 1896, pág. 344).

(6) **Rouget**.— Contribution à l'étude du Trypanosome des mamifères (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1896, p. 717.)

(año 1896), indicaron las posibles relaciones entre un *Trypanosoma* encontrado en dos caballos enfermos y el origen y contagio de una afección por demás conocidísima en las colonias y en la misma Europa, la *durina* (ó enfermedad del coito).

Más exactamente y con mayor certidumbre, **Schneider** y **Buffard** (1), en 1899, establecieron la patogenia de esta enfermedad del ganado caballar, atribuyéndola al *Trypanosoma*, que describieron en sucesivas Memorias (2) como distinto del que produce la **Surra** y la **Nagana**, cuyos caracteres morfológicos, en comparación con los de esta especie, examinaremos más adelante. El parásito de la durina ha sido designado por **Doflein** (1901) con el nombre de *Trypanosoma equiper-*

---

(1) **Schneider** y **Buffard**.—Note sur un parasite trouvé dans le sang d'animaux atteints de *Dourine* (*C. R. Acad. de Méd.*, París, 1889, 25 Julio). — Pertenece, indudablemente, á estos autores la prioridad de la descripción y determinación exacta del parásito de la *durina*. Los casos descritos por **Rouget** y **Chauvrat** son de dudoso diagnóstico. Aunque el primero de estos autores haya escrito en su trabajo antes citado: «Le cheval qui nous à fourni le parasite avait été reconnu atteint de dourine par le vetérinaire du depôt de remonte de Constantine, qui opère en Algérie depuis plusieurs années. De plus il est indéniable que les lapins et les chiens inféctés par le *Trypanosome* présentent plusieurs symptômes analogues à ceux de la maladie du coït. Qoie qu'il en soit en admettant même que le trypanosome n'ait aucun rapport avec la dourine, nous restons convaincus que bon nombre de chevaux, regardés comme atteints de cette maladie succombent en réalité à l'infection par l'hématozoaire»; todavía, según hace constar **Nocard** (loc. cit., pág. 614, vol. II), hay muchas razones para creer que no se trataba en realidad de la durina, sino de un caso esporádico de *surra* ó de *nagana*. En efecto, ratones y cobayos parecen refractarios al agente patógeno de la durina, pero no al *Trypanosoma* de la surra ó de la nagana.

(2) **Schneider** et **Buffard**.—Contribution á l'étude de la dourine (*C. R. Acad. de Médecine*, París, 1889, 19 Sep.).

Idem id. — La dourine et son parasite (*Recueil de Médecine vétérinaire*, 1900, pág. 81, 157 y 220).

Idem id. — Parasitisme latent et immunisation dans la dourine (*Journal de Médecine vétérin.*, 1902, p. 144).

dum (sinónimo Tr. Rougeti, que algunos autores han adoptado en sustitución del precedente).

Por fin, **Voges** (1), en 1901, llamó *Trypanosoma equinum* á un parásito encontrado y descrito la primera vez por **Elmassian** (2), del Instituto Bacteriológico de la Asunción, con anterioridad, aunque durante el mismo año de 1901, en caballos enfermos de una afección epizoótica caracterizada clínicamente por una paresia ó parálisis progresiva de los miembros posteriores, indicada con el nombre de «Mal de cadera».

La «Surra» (**Evans**, 1880), la «Nagana» (**Bruce**, 1885), la «Durina» y el «Mal de caderas» deben considerarse, por tanto, como cuatro enfermedades distintas, causadas por especies de Trypanosomas igualmente distintas. A éstas tenemos que añadir la epizoocia de los bovinos del Transvaal, descrita por **Theiler**, y la enfermedad de los caballos del Gambia, que **Dutton** y **Told** observaron durante su expedición en 1902-1903 (3), producida por *Trypanosoma dimorphon.*

Otras dos formas de estos parásitos han sido encontradas en la sangre (y líquido céfalo-raquídeo) del hombre.

Este descubrimiento señala un hecho nuevo en la parasitología, y al mismo tiempo que nos proporciona nuevos datos para el conocimiento y definición de los caracteres morfológicos de las especies patógenas de Trypanosoma, aumenta por otra parte las dificultades é incógnitas para su distinción y clasificación.

El primer caso de tripanosomiasis en el hombre fué observado por el médico inglés **Forde**, y diagnosticado, bajo el aspecto parasitológico, por **Everett Dutton** (4). Tratábase de un inglés, de cuarenta y dos años de edad, sin precedentes anamnésticos dignos de ser puestos de relieve, empleado desde seis años como conductor de un buque á vapor sobre el río Gambia (Africa occidental), que cayó enfermo con fiebre en los primeros días de Mayo de 1901. Durante los primeros tiempos de la enfermedad, ésta fué tratada, por infección palúdica, con quinina. El Dr. Forde hizo, después de algunas semanas, el examen de la sangre, y no encontró los parásitos del paludismo en ninguna de sus formas, sino ciertos cuerpecitos fusiformes, flagelados, que en preparaciones directas, examinadas en fresco, parecían dotados de movimientos activísimos en el plasma. Observaciones sucesivas confirmaron este resultado. Sin embargo, Forde no interpretó debidamente la estructura y caracteres morfológicos de estos parásitos. Algunos meses más tarde, Dutton vió al enfermo en el hospital de Bathust (Gambia), reconoció y describió los *Trypanosomas*, y les dió el nombre específico de *Trypanosoma gambiense*.

---

(1) **Voges.**— Das «Mal de Caderas» der Pferde in Süd-Amerika (*Berliner thierärztl-Wochenschrift,* 1901, pág. 597).

(2) **Elmassian.**—Mal de Caderas (*Revista veterinaria,* t. VII, página 7, 1901).

(3) Tirst Report of the Trypanosomiasis expedition to Senegambia. — *(Yohmston and Thompson Yates Laborat. Report.,* tomo V, 1903.) (Resumen in *Bulletin de l'Inst. Pasteur,* 1904.)

(4) Cfr. **Forde**, **Dutton**, **Manson**.—(*Journal of Tropical Me-*

Patrick Manson (1) comprobó las precedentes observa-

---

dicine, 1.º Sept. y 1.º Noviembre 1902; —íd. *British med. journal*, 20 Sept. 1902.)

Nepveu, en 1893, había comunicado á la *Société de Biologie de París* el hallazgo de una forma de *Trypanosoma* en la sangre de un hombre observado en Algeria.

(1) Loc. cit., y Cfr. P. Manson.—Tropical diseases (A manual of the diseases of Warm climates).—London, Cassel ed. 1903, página 177.

Las Memorias de este mismo autor y de numerosos investigadores que le sucedieron, publicadas desde la fecha relativamente reciente (1903) del descubrimiento hasta ahora, dan idea completa de los estudios llevados á cabo, á costa de tantas dificultades, sobre las tripanosomiasis humanas. Sólo con un examen detenido de las conclusiones de cada observador, podemos lograr un concepto claro acerca del problema de la identidad específica de los Trypanosomas encontrados en los casos, de apariencia tan distinta, de Dutton, Manson y Castellani, y de la identidad nosológica de los dos cuadros clínicos por ellos descritos.

Cfr. Maxwell-Adams.—Trypanosomiasis and its causes (*Bri-*

ciones, observó personalmente, junto con el Dr. Daniels (Londres), un nuevo caso de tripanosomiasis humana, caracterizada clínicamente por los mismos síntomas agudos (fiebre, exantemas, epistaxis, edemas, debilidad general: tumefacción del bazo, como en la infección malárica), y proporcionó nue-

---

tisch Medical journal, 28 Marzo 1903).—En esta publicación, precedente á la de Castellani, en que este autor comunica sus primeros resultados, Maxwell-Adams adelanta la hipótesis de una relación patogénica entre los Trypanosomas y la enfermedad del sueño.

Low y Castellani.—La enfermedad del sueño bajo el aspecto clínico (*Proceeding of the Royal Society*, Noviembre 1908).

Bruce y Nabarro.—Sobre la enfermedad del sueño en Uganda (*Proceeding of Royal Society*, London, Agosto 1903).

Bruce, Nabarro y Greig.—Informe sobre la enfermedad del sueño (*Proc. Royal Society London*, Noviembre 1903).

Maxwell-Adams. — Trypanosomas y enfermedad del sueño (*Brit. Med. journ.*, 16 Abril 1904).

Low G. C. y F. Walker Mott.—Examen de los tejidos en un caso de enfermedad del sueño en un europeo (*Brit. med. journ.*, 30 Abril 1904).

Dutton-Todd-Christy.—Trypanosomiasis humana en el Congo (*British Med. journal*, 23 Enero 1904).

Wolferstan y Linston.—Los Trypanosomas de la enfermedad del sueño en Uganda y Estado del Congo, comparados con el *Trypanosoma gambiense* (*The Lancet*, 14 Mayo 1904).

L. W. Sambon.—Sleeping Sickness in the light of recent Knowledge (*Journal of tropical Medicine*, VI, 1.° Julio 1903).—Idem, id. *Epidemiological Society, London*, Discusión, 12 Dic. 1903.—Idem, idem. *Journal of Tropical disease*, 15 Febrero y 1.°-15 Marzo 1904).

Cannac.—Un cas de maladie du sommeil à la Côte d'Ivoire (*Archives de Médec. navale*, Febrero, 1904).

Günter y Weber.—Un caso de Tripanosomiasis en el hombre (*Münch. med. Woch.*, núm. 24, 1904). Trátase de un caso observado en un europeo, probablemente infectado en Cameroun (Africa occidental).

W. Renner.—Tripanosomiasis or sleeping-sickness in Sierra-Leone (*Journ. of Tropic. medic.*, VII, 15 Nov. 1904, pág. 349).

Kruεger.—Enfermedad del sueño en Togo (*Arch. für Schiffs.u. Tropenhygiene*, VIII, Nov. 1904).

vos detalles acerca de la estructura del parásito. Un tercer caso (el cuarto, si se toma en cuenta como primero el de **Nepveu**, citado en una nota anterior), fué descrito por el Dr. **Le Moal** (1).

Mas en el año 1903, **Castellani** descubrió también en la sangre y líquido céfalo-raquídeo de individuos atacados por la llamada «enfermedad del sueño» un Trypanosoma, que consideró como agente productor de dicha enfermedad, y cuyos caracteres biológicos parecían, por tanto, distintos, así como también algunos caracteres morfológicos, de los propios del *Trypanosoma gambiense* (2).

Ejemplares de la nueva especie fueron presentados por **Sir Patrick Manson** en la VII Sección (Medicina colonial) del Congreso internacional de Higiene en Bruxelles (Septiembre de 1903), con las propias preparaciones del Dr. **Castellani**; y allí tuvimos personalmente ocasión de observarlos (3). **Castellani** había dado el nombre de *Trypanosoma ugandense* á la nueva especie: **Kruse**, que había sido su maestro en Bonn propuso el nombre de *Trypanosoma Castellani*.

Poco después, **Brumpt**, auxiliar del Dr. **Blanchard**, Catedrático de Parasitología en la Facultad de Medicina de París, encargado de una misión científica en el Congo, documentaba con nuevas observaciones las conclusiones de **Castellani** (4), añadiendo importantísimos datos, comunicados en sucesivas sesiones de la *Sociedad de Biología* (1903 y 1904), sobre la estructura de los parásitos, difusión, epidemiología, transmisión.

Entonces tuvo su origen la duda de si la enfermedad febril observada por **Forde**, **Dutton**, **Manson**, etc., y el Trypanosoma, que se considera como su causa (*Trypanosoma gambiense*), deben conceptuarse distintos, respectivamente, de la enfermedad del sueño y del *Trypanosoma Castellani*, ó bien si aquélla no representara más que un primer período inicial, un estado agudo transitorio, al cabo del cual, y en determinadas circunstancias, llegarían los enfermos á manifestar el cuadro clínico de la enfermedad del sueño. *Adhuc sub judice, lis est.* Muchas razones hay, sin embargo, para atenerse á esta última interpretación. *Trypanosoma ugandense* (s. *Castellani*), debe, por tanto, identificarse con *Tr. gambiense.*

---

(1) *Le Caducée*, 20 Diciembre 1902.

(2) A. **Castellani**. — (*Journal of Tropical Medicine*, 1.° Junio 1903.)

(3) V. *Comptes Rendus* del Congreso de Higiene, Bruxelles, Sección VII; discusión acerca de la «Enfermedad del Sueño», 4 Septiembre 1903.

(4) **Brumpt**.—*Soc. Biol. Paris*, passim, 1904-1905.

II

Esta breve reseña histórica nos parecía necesaria para abarcar rápida y someramente el desenvolvimiento de los estudios biológicos acerca de los *Trypanosomas*.

Sin detenernos más en ella, vamos á examinar ahora en una breve sinopsis los caracteres específicos de las formas determinadas hasta estos últimos días dentro del género *Trypanosoma*, como parásitos de peces, batracios, reptiles, aves y mamíferos.

Advertiré, desde luego, que en la asignación de los nombres me permito algunas variaciones é innovaciones, con arreglo siempre á los métodos adoptados por el último Congreso internacional de Zoología, y publicados muy recientemente por el ilustre Presidente del *Comité internacional permanente* para la Nomenclatura Zoológica, Dr. RAFAEL BLANCHARD (1). Demasiado desconocidas y desatendidas, sobre todo por los médicos, han estado estas reglas, que tienden á ajustar la taxonomía zoológica á un tipo uniforme, y nos parece oportuno dar el ejemplo de adoptarlas en sus inmediatas aplicaciones.

---

(1) Régles internationales de la Nomenclature Zoologique, adoptèes par les Congrès internationales de Zoologie.—F. R. RUDEVAL, ed. (rue A. Dubois, 4), 1905.

I. **Trypanosomas en los peces:** (**Valentín**, 1841, in *Salmo fario*).

Gen. *Trypanosoma* (sinónimo: *Haematomonas*, **Mitrophanow**, loc. cit.), descrito por **Remak**, **Mitrophanow**, **Danilewsky**, **Chalaknikow**, **Laveran**, etc. (1), in *Cobitis fossilis*, *Carassius vulgaris*, *Cyprinus carpio*, *Perca fluviatilis*, *Esox*, etc.

1. *Trypanosoma cobitis*, 1883 (emend., *Haematomonas cobitis* **Mitroph.**).
2. *Trypanosoma carassi* (emend., *Haematomonas carassi* **Mitroph.**).
3. *Tryp. Remaki* (en *Esox lucius).*
4. *T. Danilewskyi* (en *Cyprinus carpio, Tinca tinca, Perca fluviatilis*), (loc. cit.)

(Tipo A Dimensiones medias: 25 á 50 μ largo × 2 á 3 $^1/_2$ μ ancho; flagelo bastante largo (10 á 20 μ); membrana ondulante delgada, afectando algunas vueltas de espiral; micronúcleo (centrosoma de **Laveran** y **Mesnil**, ó blefaroplasto), muy cerca de la extremidad posterior; reproducción (agámica) por segmentación y producción de formas *Trypanomosas* **Danilewsky**.) (Dimensiones variables: formas pequeñas y grandes).

5. *Tryp. scyllii* (**Lav.** et **Mesn.**, 1902), en *Scyllium canicula* y *Scyllium stellare.*
6. *Tryp. rajae* (**Lav.** y **Mesnil**, 1903), en gen. *Raja.*
7. *Trypanosoma soleae* (**Laveran** y **Mesnil**, 1901), en *Solea vulgaris.*
8. *Tryp. flesi* (**Lebailly**, 1904) (2), en *Flesus vulgaris.*

---

(1) V. **Laveran** et **Mesnil**.— Sur les Hématozoaires des poissons marins (*C. R. Acad. Sciences*, CXXXV, 567-570, 1901).

(2) C. **Lebailly**.—Sur quelques Hémoflagellés des Téléostéens

9. *Tryp. gobii* (Brumpt y Lebailly, 1904) (1), en *Gobius niger*.
10. *Tryp. callionymi* (Br. y Leb., 1904), en *Callionymus dracunculus*.
11. *Tryp. cotti* (Br. y Leb., 1904), en *Cottus bubalis*.
12. *Tryp. laternae* (Lebailly, 1904), en *Platophris laterna*.

(B Tipo largo y gordo; dimensiones medias: 45 á 70 μ × 5 á 7 μ; flagelo corto: 5 á 8 ó 10 μ; centrosoma (ó blefaroplasto) más gordo y algo alejado de la extremidad; los demás caracteres parecidos á los del tipo anterior.)

13. *Tryp. platessae* (Lebailly, 1904), en *Platesa vulgaris*.

(C Tipo intermedio entre B y D, sin que haya ningún carácter morfológico particular de la especie.)

14. *Tryp. delagei* (Brumpt y Lebailly, 1904), en *Blennius pholis*.
15. *Tryp. limandae* (Br. y Leb., 1904), en *Limanda platessoïdes*.

(D Cuerpo protoplásmico corto y delgado; dimensiones: 20 á 25 μ × 2 á 2 $^1/_2$ μ; flagelo bastante largo, de 12 á 20 μ. Los caracteres morfológicos de esta forma se aproximan notablemente á los del *Trypanosoma lewisi*. Kent, de los Ratones. Véase más adelante.)

---

marins (*C. R. Acad. Sciences*, t. CXXXIX, 10 Octubre 1904, página 576).

(1) E. Brumpt et C. Lebailly.—Description de quelques nouvelles espèces de Tripanosomes et d'Hémogrégarines parasites des Téléostéens marins (*C. R. Acad. Sciences*, 17 Octubre 1904, página 613).

16. ***Trypanosoma barbatulae*** **(Léger, 1904), en *Cobitis barbatula* L. (1).**

(E Trátase de un *Trypanosoma* corto y grueso, cuyas dimensiones son de 30 á 40 μ largo, comprendido el flagelo, por 4 á 6 μ ancho. El flagelo no llega á 12 μ. En el contenido intestinal de sanguijuelas que hayan chupado la sangre del pescado que hospeda este *trypanosoma* (gen. *Cobitis*), se encuentran á las diez y ocho horas unos cuerpecitos protoplásmicos piriformes, sin flagelo, más tarde verdaderas formas de *Trypanosomas*.)

17. ***Tryp. granulosum*** **(en *Anguilla vulgaris*) (2).**

(F Forma larga y delgada, de 65-70 μ × 2 $^1/_2$-3 μ, con flagelo bastante largo, membrana ondulante muy desarrollada y protoplasma relleno de granulaciones; el Trypanosoma abservado en la sangre de las anguilas por Sabrazés y Muratet ha sido estudiado en su proceso de multiplicación *in vitro* por estos mismos autores, resultando idéntico al que Neal y Novy (v. más adelante) demostraron por el *Tr. lewisi*.)

(Aquí nos vemos precisados á mencionar el nuevo género *Trypanoplasma*, creado por Laveran y Mesnil en 1901 (3),

---

(1) L. Léger.—Sur les Hémoflagéllés du *Cobitis barbatula* (Trypanosoma barbatulae et Trypanoplasma varium).—(*C. R. Société Biol.*, 5 Noviembre 1904, pág. 344.)

(2) Sabrazés y Muratet.—(*C. R. Soc. Biologie*, 16 Enero 1904, página 66.—Idem, id.— *Société Lincesenne de Bordeaux*, 18 Diciembre 1901 y Marzo-Julio 1902.)—(*Gazette hebdomadarie des Sciences médicales de Bordeaux*, 3 Agosto 1903.)—(*Bulletin Soc. Scientif. d'Arcachon*, 1902-1903.)

(3) Laveran y Mesnil.—Sur les flagéllés à membrane ondulante des poissons (genres *Trypanosoma* et *Trypanoplasma*). (*C. R. Acad. Sciences*, París, 24 Octubre 1901, 670-675).

sucesivamente estudiado por **Marianne Plehn** (1), **Léger** (2), **B. Hofer** (3).

> *Trypanoplasma Borreli* **Lav.** y **Mesnil** (en *Scardinius erythrophthalmus*, en *Phoxinus laevis* y otras especies (4).
>
> *Trypanoplasma cyprini* (en *Cyprinus carpio*, **Plehn**, 1903).
>
> *Trypanoplasma varium* (**Léger**, 1904, en *Cobitis barbatula* (5).

Trátase de una forma parecida á los *Tripanosomas*, pero con dos flagelos: uno anterior y el otro posterior; el primero más largo y más gordo, en la especie *Trypanoplasma cyprini*, iguales los dos en la especie descrita por **Laveran** y **Mesnil** (*Tr. Borreli*) y estudiada por **Léger**). Afectan los *Trypanoplasmas* membrana ondulante parecida á la de los *Trypanosomas;* núcleo y una masa cromática en relación con el origen de los flagelos, que **Laveran** y **Mesnil**, según hemos visto anteriormente, interpretan como un centrosoma, y otros autores consideran equivalente á los cromidios de Hertwig, cuyo carácter nuclear no sería, por tanto, aún diferenciado en el cuerpo celular de estos microorganismos, y en el de los *Trypanosomas (strictiori sensu).*

---

(1) M. **Plehn** (Munich).—*Trypanoplasma cyprini*, n. sp. (*Archiv. für Protistenkunde*, t. III, 1903, pág. 175, con una lámina.)

(2) **Louis Léger**.—Sur la morphologie du *Trypanoplasma* des vairons (*C. R. Acad. Sciences*, 28 Marzo 1904).

Idem, íd.—Sur la structure et les affinités des *Trypanoplasma* (*C. R. Acad. Sciences*, 5 Abril 1904).

(3) B. **Hofer**.—Die Schlaffsucht der Karpfens *(Allg. Fischerei-Zeitung*, t. XX, núm. 3, 1.° Febrero 1904.—Resumen en *Bulletin de l'Inst. Pasteur*, 15 Marzo 1904, pág. 215).

(4) A. **Laveran**.—Trypanoplasme et Trypanosome du vairon (*C. R. Soc. de Biologie*, t. LVII, 22 Octubre 1904, pág. 250).

(5) L. **Léger**.—Sur les hémoflagellés du *Cobitis barbatula: Trypanosoma barbatulae*, n. sp., et *Trypanoplasma varium*, n. sp. (*C. R. Soc. Biol.*, 5 Noviembre 1904, pág. 344).

Las dimensiones de la especie *Trypanoplasma Borreli* varían entre 20 y 25 μ de largo; los flagelos (anterior y posterior) entre 13 y 15 μ.

El cuerpo protoplásmico de estos protozoarios no aparece siempre bajo el mismo aspecto: preséntase á veces más delgado, movilísimo y sin granulaciones; á veces se observa como retraído, más bién esférico, dotado de menor grado de movilidad y muy granuloso, pero siempre armado de membrana ondulante en el lado convexo y de los dos flagelos que tienen su origen en dos puntos cromáticos anteriores: uno de ellos libre, el otro acompañando el borde de la membrana antedicha hasta su extremo posterior. Esta membrana, como en los *Trypanosomas,* debe considerarse constituída por una porción ectoplásmica delgada del cuerpo del microorganismo, y representa un aparato locomotor poderoso (Léger).

Según veremos más adelante, cuando tengamos ocasión de hacer algunas consideraciones acerca de la estructura de estos parásitos para lograr un concepto exacto de su respectiva situación y relaciones filogenéticas, un punto de sumo interés y que se presta á distintas interpretaciones es el de la significación de las dos masas cromáticas (Blefaroplasto y Núcleo, núcleo *strictiori sensu* y cromidia, núcleo y centrosoma).

II. En los Batracios:

Gen. *Trypanosoma* (sinónimo: *Undulina* Ray Lankester, 1871).

18. *Trypanosoma sanguinis* (Gruby, 1843), en *Rana esculenta* (sinónimo: *Trypanosoma rotatorium*, Mayer); en *R. viridis*, *Hyla viridis*, *Bufo vulgaris*, *Rana temporaria*, etc.); (sinónimo: *pro parte*, *Paramœcioides* Grassi, *Paramœcioides costatum*, 1882).

(A Trátase de un cuerpo protoplásmico cuyo aspecto es en extremo variable, así como sus dimensiones, que pueden ir desde 20 hasta 60 μ de largo, y desde 5 hasta 40 μ de ancho; membrana ondulante, no muy ancha. Flagelo posterior á veces muy reducido, y que puede faltar durante el período de estado amiboideo. Núcleo y centrosoma (blefaroplasto).

La forma *Paramæcioides* GRASSI débese interpretar como un estado de evolución morfológica del parásito, según demostraron los sucesivos estudios de CHALACHNIKOFF, etc. El estado amiboideo es constante en un determinado período evolutivo, antes del momento de segmentarse para dar lugar á los jóvenes elementos fusiformes, que luego tomarán á su vez forma de Tripanosomas adultos (1).

19. *Trypanosoma inopinatum* (SERGENT, 1904), en *Rana esculenta*, de Algeria.

(B Trátase de una forma descrita por SERGENT (2), luego por BILLET (3), como distinta del *Tr. sanguinis*

---

(1) La somera descripción de las especies que damos aquí, antes de emprender el estudio comparativo de sus caracteres, resulta de las observaciones de los distintos autores y de las nuestras personales; desde luego, la especificidad de estas formas puede ser ficticia, si se demostrara la verdad de un ciclo común con toda la serie de formas hematozoáricas comprendidas hasta hoy bajo distintos nombres (*Haemogregarina*, etc.)

(2) ET. et ET. SERGENT.—Sur un Trypanosome nouveau, parasite de la grenouille verte (*C. R. Soc. Biologie*, t. LVI, 30 Enero 1904, pág. 122).

(3) A. BILLET. (Constantine).—Sur le *Trypanosoma inopinatum* de la grenouille verte d'Algérie et sa relation possible avec les Drepanidium (*C. R. Soc. Biologie*, t. LVII, 23 Julio 1904, páginas 161-164, con figuras).

IDEM, ID.—Culture d'un Trypanosome de la grenouille chez une Hirudinée; relation ontogénique possible de ce Trypanosome avec une Hémogrégarine (*C. R. Acad. des Sciences*, t. CXXXIX, 10 Octubre 1904, pág. 643) (sin. *rotatorium*), que encuéntrase por lo común en la sangre de la rana. Este *Trypanosoma* es pequeño, delgado, se parece mucho á los *Trypanosomas* de los mamíferos, y, sobre todo, al *T. lewisi* del ratón, aunque recuerda también, por otros caracteres, á los *Trypanosomas* de los peces. Billet (loc. cit.) ha visto penetrar en los hematíes, perdiendo su flagelo, algunos de estos *Trypanosomas* y ha demostrado su transformación en el tubo digestivo de hirudineos del gen. *Helobdella* (*H. algira*).

Por nuestra parte, consideramos esta forma como representante un período evolutivo de la especie *Tr. sanguinis*, y precisamente como una forma joven, destinada á empezar su desarrollo endoglobular (en los hematíes del huésped vertebrado) para producir luego formas libres correspondientes á las que se conocen como características de la especie clásica de Gruby.

20. *Tryp. nelspruitense* (Laveran, 1904), observado la primera vez por Theiler en Ranas de especie indeterminada, del Transvaal (1).

(C Trátase de una forma protozoárica, larga y delgada, alcanzando hasta 70 μ, comprendido el flagelo; este último es, sobre todo, muy largo, hasta 35 μ. Núcleo céntrico. Recuerda, sobre todo, la forma *Tr. granulosum* de las anguilas.)

21. *Tryp. mega* (Everett Dutton é I. L. Todd, 1902), encontrado en la especie *Rana trinodis*, en Senegambia (2).

---

(1) A. Laveran. — Sur un Nouvelle Trypanosome d'une grénouille *(C. R. Soc. Biologie,* 1904, t. LVII, 23 Julio, pág. 158).

(2) I. Everett Dutton é I. L. Todd. — First Report on the Trypanosomiasis Expedition to Gambia (1902). *(Liverpool School of the Tropical Medicine,* Mem. XI, con 5 láminas, etc.).

V. también: A. Broden (Leopoldville, Congo).—Les Trypanosomes des Grenouilles.—(Comun. prelim., *Arch. für Sch.* und *Tropenhyg.,* t. IX, Enero 1905, pág. 18, con 1 lámina).

22. *Tryp. Karyozeukton* (ÍDEM ÍD., 1902), en el mismo huésped.

(D Trátase de dos formas muy parecidas, cuya diferencia estriba, según los autores que las han descrito, en esto: que *Tryp. Karyozeukton* está caracterizado por una cadena de granulaciones que van desde el núcleo hasta el centrosoma (blefaroplasto), y que faltan en *Tryp. mega*. Por lo demás, dimensiones muy notables, formas muy voluminosas y gruesas. Nos parece muy dudosa la diferencia específica de estas dos formas. Trátase, según toda probabilidad, de variaciones morfológicas, en distintos momentos, de la misma especie parasitaria.)

23. *Trypan. innominatum,* n. sp. PITTALUGA (descrito por el Dr. LEBREDO, 1903, en la *Rana*) (1).

(E Esta forma corresponde, muy probablemente, á la descrita por SERGENT bajo el nombre *Tr. inopinatum*. Sin embargo, sus dimensiones son mayores: de 42 á 48 μ de largo por 2,60 á 6 μ de ancho. Presenta un cuerpo delgado, al cual se adhiere la membrana ondulante, más ancha en la porción media del Trypanosoma. Límite de separación entre el cuerpo y la membrana ondulante, poco

---

(1) DR. MARIO G. LEBREDO.—Huéspedes de infección protozoárica (*Revista de Medic. y Cirug. de la Habana,* 25 Noviembre 1903, pág. 488).—Dice literalmente el A.: «No clasificamos al Trypanosoma de la Rana que hemos encontrado, por no corresponder á ninguno de los que existen en las obras de protozoarios que hemos podido examinar, pareciéndose algo al *Trypanosoma carassii,* que se encuentra en determinados peces, ó quizás sea el *Tr. rotatorium*».

Con el método de Romanowsky, dos tercios del *Tryp.* toman un color más obscuro que el otro tercio, que es como vacuolado. La extremidad que corresponde á la porción más blanca termina en una punta, no muy aguda, algo roma; y la extremidad opuesta, que corresponde á la porción más teñida, termina en una flagela distinto. «La particularidad de este Tripanosoma —dice el Dr. Lebredo— es el no haberle encontrado en la sangre periférica, sino en los gruesos troncos vasculares de la circulación central, principalmente en los gruesos vasos del hígado y bazo».)

III. En los Reptiles:

24. *Tr. damoniæ* Laveran (en *Damonia Reevesii*, galápago asiático). Dimensiones: 32 μ × 4 μ. Membr. ondul. muy desarrollada. Blefaroplasto relativamente pequeño.

IV. En las Aves:

Gén. *Trypanosoma* (sinónimo *Globularia* WEDL).

25. *Tryp. sanguinis avium* (DANILEWSKY, 1886), en los géneros *Athene noctua* (ó *Carine noctua), Syrnium aluco, Corvus corax, Falco tinnunculus*, etc.

(A Este Trypanosoma de las aves se encuentra en las especies antes indicadas, y en otras, según las investigaciones repetidas de DANILEWSKY (loc. cit.), y las re-

---

difícil de percibir; así es que las mediciones que hemos dado corresponden en el largo de extremidad á extremidad de la membrana ondulante, y en el ancho al ancho total del Trypanosoma.

Presentan un solo punto pequeñísimo de cromatina, muy fuertemente teñido y muy perceptible, situado en la extremidad más clara y como á un décimo de la punta de esa extremidad. Tienen además un núcleo que toma un color ligeramente rosado en el tercio, es decir, en el sitio en que se diferencian las dos terceras partes muy teñidas de la tercera más clara. Este núcleo es del ancho del Trypanosoma, homogéneo y sin cromatina.

Algunos de estos Trypanosomas parecen tener la extremidad no flagelada — bífida — y también presentan un vacuolo al lado del núcleo, pero esto no es constante.

cientes de **Ziemann**, **Laveran**, **Mesnil**, **Hanna**, **Thiroux**, **Sergent**, etc., en la sangre periférica, en la medula de los huesos y bazo.

Cuerpo fusiforme, diáfano, con núcleo único esférico, extremidad anterior para determinados autores (**Laveran**), posterior para otros (**Leger**), terminada con un flagelo más ó menos largo; membrana ondulante, hyalina, transparente desde el flagelo hasta cerca de la extremidad opuesta del cuerpo, terminando allí en correspondencia de un punto cromático que se tiñe intensamente con los colores mixtos de anilina. Dimensiones variables, medias entre 25 y 50 μ, con flagelo. Dos modos de reproducción.

Esta forma típica, *Trypanosoma sanguinis avium,* de **Danilewsky**, ha sido observada luego en muchasespecies de pájaros. **Ed.** y **Et. Sergent** la han encontrado en Algeria: una vez, sobre 46 ejemplares, en *Fringilla carduelis;* dos veces, sobre cinco ejemplares, en *Sylvia atricapilla;* tres veces, sobre 10 ejemplares, en *Hirundo* (1).

26. *Tryp. Iohnstoni* (**Dutton** y **Todd**, 1902, en Senegambia).

(B Trypanosoma delgado, muy prolongado posteriormente, con centrosoma ó cuerpo metacromático (blefaroplasto) muy alejado de la extremidad, como en el Trypanosoma descrito por **Roger** y **Greffulhe** en una particular infección de los caballos en Algeria) (2).

---

(1) **Ed.** et **Et. Sergent.**— Sur les hématozoaires des oiseaux d'Algérie (*C. R. Soc. de Biologie,* t. LVI, 30 Enero 1904, pág. 132). En todas las otras especies de aves examinadas, encontraron estos autores 234 veces *Haemogregarina, Haemamaeba relicta, danilewsky, Ziemanni.* Las especies examinadas son: *Sylvia vulgaris, Alauda cristata, Fringilla linota, Passer chloris, Lanius escubitor, Athene noctua, Tortur auritas, Merops apiaster, Falco tinnunculus, Columba livia, Pyrrhula, Caprimulgus, Luscinia, Coccothrauster.*

(2) Loc. cit. **Dutton** y **Todd.**—First Report on the Trypanosomiasis Exped. to Senegambia, 1902. *(Liverpool School of Tropic. Med.)*

Huéspedes de esta especie:

Gén. *Estrelda* y gén. *Crythagra.*

27. *Trypan. Paddae* (Laveran y Mesnil, año 1904.) (En *Padda oryzivora.)*

(Ha sido estudiado detenidamente por Thiroux, del Instituto Pasteur, París (1), habiendo logrado transmitir el parásito á canarios y otras aves; sin embargo, con resultado negativo en *Columba*, así como en mamíferos (Ratones y Ratas.)

Esta especie no puede separarse, á mi entender, del tipo común del *Trypanosoma sanguinis avium* más que por caracteres secundarios. (Véase el tipo A.)

28. *Trypanosoma Hannae,* n. sp. mihi, 1905 (2).

Ya Dutton y Todd (loc. cit.) en 1902 habían descrito una forma parecida á ésta, observada por Hanna en *Columba livia*, á la cual yo doy el nombre de *Trypanosoma Hannae.*

Parece constituir realmente, entre los *Trypanosomas* de las aves, un tipo aparte.

(Tipo C Trátase de un *Trypanosoma* cuyas dimensiones son de 50 μ largo por 7 μ ancho, coexistente en la sangre de *Columba livia* (y otras especies) con *Halteridium Danilewskyi.*

Esta forma es muy semejante á los Trypanosomas de la Rana, tipo A, en algunos de sus aspectos; el cuerpo parece igualmente puntiagudo á las dos extremidades, pero una sola termina con flagelo.

El mismo autor (Hanna) describe también otra forma, encontrada en preparaciones de sangre de *Corvus corax* (hechas por Ross desde 1898), y distinta de la precedente, al parecer, por no exceder nunca sus dimensiones de 3 á 4,8 μ en lo ancho, siendo siempre de 50 μ en media la medida de lo largo. Pienso que estos caracteres, faltando además todo conocimiento acerca del núcleo y del centrosoma (cuerpo netacromático ó blefaroplasto), que en las preparaciones de Ross no estaban teñidos, no pueden considerarse de ninguna manera como suficientes para crear una especie nueva.

---

(1) Thiroux. — Sur un nouveau Trypanosome des oiseaux (*C. R. Acad. des Sciences*, t. CXXXIX, 11 Julio 1904, con 5 fig.).

(2) W. Hanna (Liverpool). — Trypanosoma in birds in India (*Quarterly journal of Micr. Sciences,* t. XLVII, Diciembre 1903, página 433, con 1 lám. color).

V. En Mamíferos:

Gén. *Trypanosoma* (sinónimo, *Herpetomonas* KENT).

29. *Trypanosoma Lewisi* (LEWIS, 1878; KENT, 1880), observado en ratas y ratones de varias especies: *Mus decumanus*, *Mus rattus*, *Mus alexandrinus*, *Mus rufescens*, *Nesokia gigantea*.

La descripción de esta especie, después de las primeras observaciones de LEWIS en Calcuta (loc. cit.) y VON WITTICH en Europa (1), y de los estudios sucesivos de RABINOWITCH-KEMPNER, 1899 (2); VON WASIELEWSKY y SENN, 1900 (3); LAVERAN y MESNIL, 1901 (4); IURGENS, 1902 (5), etc., ha podido hacerse en manera completa y definitiva por los más recientes investigadores: **Erich Martini**, 1903-1904 (1); **Mac Neal** y **Novy**, año 1903 (2); **Laveran** y **Mesnil** (3), **Kalph Smedeley** (4), **Castellani** (5) y otros.

---

(1) V. WITTICH —Spirillen im Blut von Hamstern (*Centbl. f. die Medizinisch. Wochen schrift*, 1887, núm. 4).

(2) Beiträge Zür Kenntnis der Blutparasiten, speziell der Rattentrypanosomen (*Zeitschr. f. Hygiene und Infectionkr.*, bd. XXX, 1899, pág. 251).

(3) Beiträge Zur Kenntnis der Flagellaten des Rattenblutes (*Zeitschr. f. Hyg. u. Infect.*, XXXIII, 1900).

(4) Recherches morphologiques et expérimentales sur le Trypanosome des rats (*Annales Inst. Pasteur*, 1901, núm. 9, pág. 673).

(5) IURGENS.—Beiträge Zur Biologie des Rattentrypanosomen (*Asch. für Hygiene*, XLII, 1902).

F. **Guiteras** (1903) (6) ha observado en los ratones de la isla de Cuba un *Trypanosoma,* que indudablemente debe identificarse con esta especie esparcida en todo el mundo.

---

(1) E. **Martini** (Instituto de Enfermedades infecciosas, Berlín).—Vergleichende Beobachtungen über Bau und Entwickelung der tsetse und Rattentrypanosomen (*Zestschriffzum Sechzigsten Geburtstage von R. Koch,* Jena, 1903, separ). (Con 2 láminas y 33 figuras fotogr.).

(2) **Ward Mc Neal** y **Frederick G. Novy**.—On the cultivation of Trypanosoma lewisi (*contribut. to Medic. Research,* etc., Michigan, U. S. Amer., Junio 1903, pág. 549.—Resumen en *Bulletin Inst. Pasteur,* 15 Octubre 1903, pág. 602).

(3) *C. R. Soc. Biolog.,* 22 Octubre 1904.—En esta comunicación Laveran y Mesnil examinan la posibilidad de la infección del ratón blanco por *Tryp. lewisi,* parásito que hasta entonces no se había observado (espontáneamente) en las especies *M. rattus* y *M. alexandrinus.* Los citados autores observaron dos veces la infección. Muy probablemente estos ratones blancos habían sido puestos en jaulas juntos con ratones comunes, y de éstos, algunos tendrían parásitos en la sangre. La transmisión debería imputarse probablemente á las pulgas ó á los piojos.

(4) **Kalph D. Smedeley** (Laborat. patol. Univ. Cambridge, *Inglaterra*).—The cultivation of Trypanosomata (*Journal of Hygiene,* t. V, 10 Enero 1905, pág. 24, con 2 láminas).

(5) **Aldo Castellani** y **A. Willey**.—Observations on the Haematozoa of Vertebrates in Ceylan (*Spolia zeylanica,* t. II, Agosto 1904, pág. 78, con 1 lámina).—En 25 por 100 de *Mus decumanus* en Colombo, estos autores han encontrado el *Trypanosoma lewisi.*

(6) F. **Guiteras**.—(*Revista de Medicina Tropical,* de la Habana, núm. 4, Abril, 1903.)—Los caracteres del *Trypanosoma* encontrado por Guiteras son: dimensiones, desde la extremidad anterior hasta el punto metacromático (centrosoma de **Laveran**), 4-5 μ; desde este punto al núcleo, 9 μ; desde el núcleo hasta la extremidad del flagelo, 13 $^1/_2$ μ; total cerca de 30 μ por 3 $^1/_2$-4 $^1/_2$ μ de ancho. Membrana ondulante, delgada, transparente. Endoplasma granuloso.

Constituye el tipo de los *Trypanosomas* de los mamíferos.

(A No daremos una descripción detallada de la especie, por encontrarse en todos los autores precedentemente recordados.

Caracteres principales: dimensiones medias, 25 μ largo × 2 μ ancho; membrana ondulante, delgada, con borde poco festoneado y casi sin pliegues; flagelo terminal (*anterior*, según LAVERAN y MESNIL, NOCARD, ER. MARTINI, etcécera; *posterior*, según LÉGER y otros) bastante largo. Núcleo en la porción protoplásmica más cercana á la extremidad armada del flagelo. Masa cromática (punto metacromático ó centrosoma, blefaroplasto) intensamente teñida con los métodos de ROMANOWSKY, modificado; VASILEWSKY ó LAVERAN, en la extremidad opuesta, donde toma su origen el borde externo lineal de la membrana ondulante, cuyo borde puede considerarse como en continuación con el flagelo. Multiplicación por división esquizogónica (binaria, sucesiva ó múltiple) en la sangre del huésped vertebrado, á consecuencia de la infección experimental.

La infección de las ratas es común en toda Europa, en la proporción de 25 por 100 en Londres (según CROOKESHANK), 41 por 100 en Berlín (RABINOVITCH y KEMPNER), 5 por 100 en París (LAVERAN);—40 por 100 sobre la costa occidental de Africa (KOCH).

30. *Trypanosoma cuniculi.*

Trátase, probablemente, de una variedad del *Tr. lewisi*, encontrado en el conejo (JOLYET et DE NABIAS (1), M. NICOLLE, PETRIE (2), BOSC (3). Uno de los conejos examinados por PETRIE ha quedado en observación durante diez meses, en apariencia de buena salud. La forma descrita por BOSC se acerca más en sus caracteres morfológicos á la del *Tryp. lewisi*. La de PETRIE parece, por las dimensiones indicadas, algo más pequeña y delgada (1).

---

(1) *Journal de Médicine de Bordeaux,* 18 Mars 1901.

(2) G. T. PETRIE. — A nôte on occurrence of a Trypanosome in rabbit (*Centrlbl.* f. *Bakt.*, etc., XXXV, 16 Enero 1904, pág. 484).

(3) F. J. BOSC. — Recherches sur la structure et l'appareil nucléaire des Trypanosomes (à propos d'un Trypanosome observé chez le lapin) (*Asch.* f. *Protistenk.* V, 1904, pág. 40).

En otros pequeños mamíferos también se han encontrado *Trypanosomas* (en *Cricetus frumentarius, Spermophilus, Sciurus, Myoxus avellanarius*, etc.), debiéndose interpretar con toda probabilidad estos parásitos como variedades de *Tr. lewisi*.

Sólo nos interesan, por presentar caracteres específicos de algún relieve, los *Trypanasomas* de los murciélagos (2).

31. *Trypanosoma vespertilionis*, (BATTAGLIA, 1904).

Esta forma ha sido estudiada en la sangre de *Vesperugo noctula* por el DR. MARIO BATTAGLIA (3). Sus caracteres, según los refiere este autor, son los siguientes: dimensiones, 12 á 15 μ por 2 á 3 μ de ancho; la membrana ondulante apenas visible; la línea que indica su borde externo se tiñe intensamente con los métodos clásicos, pero falta el flagelo. Este aparece en las formas jóvenes de una fase reproductiva que el A. ha determinado, experimentando con sangre de *Vesperugo noctula* infectada, inyectada en una cavia. El A. demuestra también la existencia de una fase intraglobular del parásito (en el huésped artificial, es decir, en el animal de experimento). (Tipo B.)

---

(1) BOSC (loc. cit.) insiste sobre todo en poner de relieve que el centrosoma ó micronúcleo posee verdadera textura nuclear, y quizás una significación energética y funcional distinta de la que le asignan los demás autores. Veremos más adelante el valor é importancia de estas interpretaciones.

(2) Ya DIONISI (*Att. della Soc per gli Studi sulla Malaria*, 1899) y F. TESTI (*Bollettino della Soc. Zoologica italiana*, 1902) habían observado *Trypanosomas* en los murciélagos; pero no han dado descripciones de las formas encontradas.

(3) Dott. M. BATTAGLIA. — Alcune ricerche sopra due trypanosomi: Tryp. vespertilionis, e Tryp. lewisi (*Annali di Medicina Navale*, Novembre, 1904, Roma).

E. et E. **Sergent** también han decrito formas de *Trypanosomas* en los murciélagos de las especies *Vespertilio kuhli* (diez veces sobre 26 ejemplares) y *Myotis murinus* (siete veces sobre 35 ejemplares) (1):

32. *Trypanosoma nicolleorum* (**Sergent**, año de 1904).

Dimensiones: 20-24 $\mu \times 1\ ^1/_2\ \mu$; muy delgado.

33. *Tr. incertum* (*Tr. vespertilionis* seg. **Sergent**; emend. **Pittaluga**).

El nombre de *Tr. vespertilionis* pertenece á la forma descrita por **Battaglia**; por tanto, no puede mantenerse para la especie indicada por **Sergent** con fecha posterior. Por otra parte, esta especie es dudosa, según confesión de su mismo autor; por eso la hemos llamado *Tr. incertum* (dimensiones algo mayores de la precedente) (2).

34. *Trypanosoma evansi* (**Steel**, 1885; descubierto por **Evans** en 1880 (loc. cit.).

Parásito de caballos, asnos, mulos, camellos y quizás otros animales domésticos, en los cuales produce la enfermedad conocida con el nombre de *surra* (1).

---

(1) **Ed.** et **Et. Sergent** — Sur les Trypanosomes des chauves-souris (*C. R. Soc. de Biol.*, 14 Enero 1905).

(2) **Nicolle** y **Comte** han empleado un murciélago (*Vespertilio Kuhli*) para experimentar su receptividad para el Tr. que **Sergent** había descubierto en los dromedarios de Algeria (Faible réceptivité d'une chauve souris pour un Trypan. pathogène, in *C. R. Soc. Biol.*, 11 Febrero 1905, pág. 245). Por otra parte, **Laveran** (*C. R. Soc. Biol.*, 7 Enero 1905) había demostrado, al contrario, la facilidad con que la especie *Pteropus medius* se infecta con el *Trypanosoma evansi*.

El *Tr. evansi* tiene muchos caracteres comunes con el *Tr. lewisi*, pero su extremidad opuesta á la que lleva el flagelo no es puntiaguda, como en la especie que afecta al ratón: al contrario, es redonda y casi parece cortada. La situación del micronúcleo ó centrosoma (blefaroplasto ó cuerpo metacromático del que toma origen el flagelo) no es la misma tampoco en la una y en la otra. Difiere, por otra parte, el *Tr. evansi* del *Tr. brucei*, por no presentar en su cuerpo protoplásmicos aquellos granulos cromáticos que caracterizan á esta especie. La reproducción de *Tr. evansi*, estudiada detenidamente en estos últimos años, sobre todo por NOVY, MC. NEAL y HARE (2) y otros, parece efectuarse también por segmentación del tipo binario, pero sin formación de *rosas* por sucesivas biparticiones, y prevalentemente longitudinal.

Dimensiones medias del parásito, 25 á 28 $\mu \times 1\,{}^1/_2\,\mu$.

Probable transmisión por las moscas y tabanidos (género *Stomoxis*, *Hæmatopola*, *Tabanus*) (3).

35. *Tr. brucei* (PLIMMER et BRADFORD, 1899; descubierto por BRUCE, 1885).

---

(1) V. LINGARD. — Report on horse surra, 1893. — IDEM. — The disease surra in solipeds and camels (*The Veterinary Journal*, 1894 página 174). — CURRY. — Report on a parasitic disease in horses, mules, and caribao in the Philippine Islands (*The Veterinary Journal*, LIV, 1902, pág. 292).

(2) T. G. NOVY, W. J. MC. NEAL, CH. B. HARE. — The cultivation of surra Trypanosome of the Philippines (*Journ. of the Americ. Mèdic. Associat.*, 28 Mayo 1904).

Cfr. también Y. D. E. HOLMES. — Evolution of the Trypanosoma evansi (*Journal of Compar. Pathol. a. Therap.*, t. XVII, 30 Septiembre 1904).

(3) ROGERS. — The transmission of the Trypanosoma evansi by horse flies, etc. (*Proceedings of The Royal Society*, London, LXVIII, 1901, pág. 163). La cebra no presenta inmunidad para el *Tr. evansi*, como se creía: cfr GROTHUSEN (*Arch. f. c. u. Tropen Hygiene*, 1903, núm. 8)

Trypanosoma brucei es el agente patógeno de la enfermedad epizoótica llamada «nagana» (1). Sus caracteres específicos son bastante conocidos y suficientes para distinguirle de las formas parasitarias de otras enfermedades del ganado caballar (2).

Dimensiones: 27 á 33 $\mu \times 1\,^1/_2$ á $2\,^1/_2\ \mu$. (Estas dimensiones son menores cuando la especie se cultiva experimentalmente en otros mamíferos.) Membrana ondulante delgada y estrecha; flagelo relativamente corto (6-8 μ). Formas de división longitudinal muy frecuentes, con desdoblamiento del flagelo y punto cromático (centrosoma, blefaroplasto), anterior á la división nuclear. (El desdoblamiento del flagelo ha sido contestado por Mc. NEAL, que cree enteramente neoformado el flagelo de la forma más pequeña en la bipartición del Trypanosoma.) En preparaciones de sangre, con método de LAVERAN ó de ROMANOWSKY modificado, se observan en el cuerpo del Trypanosoma (en su porción terminal opuesta á la del flage-

---

(1) KANTHACK, DURHAM y BRANDFORD. — On Nagana or tsetse-fly disease (*Proceedings of The Royal Society*, t. LXIV, 1898, página 100).—R. KOCH, 1898, Berlín.—PLIMMER y BRANDFORD.—A prelim. note on the Morph. and distribut. of the organism found in the tsetse-fly disease (*The Veterinarian*, 1899, págs. 97 y 618).—THEILER. — Die tse-tse Krankeit (*Schweizer Archer für Thiereilk*, 1901, págs. 97 y 153).—SCHILLING (*Centralbl. für Bakter*, etc., 1901 y 1902).

(2) LAVERAN et MESNIL.—Recherches morphologiques et expérimentales sur le Trypanosome du nagana ou maladie de la mouche tse-tse (*Annales de l'Institut. Pasteur*, 1902, pág. 1; este trabajo va acompañado por una Bibliografía bastante completa).—IDEM ID. — De l'evolution du nagana et de sa variabilité suivant les espèces animales (*Bulletin de l'Academie de Médecine*, t. XLVII, 1902, pág. 646). — R. KOCH. — Ueber die Trypanosomen Krankheiten (*Deut. Wochenschr. Med.*, 1904, núm. 47). — E. MARTINI (loc. cit.).—IDEM.—Ueber die Entwickelung der tse-tse parasiten in Saügethieren (*Zeitschr. für Hygiene*, 10 Febrero 1903, página 341). — WARD Mc. NEAL. — The life History of Trypanosoma Lewisi and Trypanosoma brucei (*Journ. of infec. Diseases*, Noviembre, 1904, pág. 517, con 7 láminas).

lo) muchas granulaciones obscuras, cromófilas; centrosoma en relación con el borde externo de la membrana ondulante y luego con el flagelo. Parásito del caballo, mulo, asno y cebra. Transmisión por las picaduras de dípteros del gén. *Glossina* (*G. morsitans*), frecuentísimos en Africa (mosca Tsé-Tsé) (1).

36. *Trypanosoma equiperdum* (Döflein, 1901; sinónimo, Tr. rougeti.

Descubierto por Rouget, Chauvrat, Schneider y Buffard, 1899; agente patógeno de una enfermedad epizoótica conocida desde muchos años con el nombre de *dourine* (*durina*), que Nocard afirma existir también en España (2).

Tr. equiperdum se parece mucho á *Tr. brucei*. El centrosoma (punto metacromático, blefaroplasto) se observa siempre con claridad, sin que en sus dimensiones, estructura y situación se puedan advertir caracteres que le hagan distinguir del de *Tr. brucei* ó *evansi*. No hay granulaciones protoplásmicas, como en *Tr. brucei*. Muchas veces aparece en la porción anterior del cuerpo de este Trypanosoma una vacuola.

Dimensiones: 25 á 28 μ largo (3).

---

(1) Morel.—Existence de la tsétsé et du nagana au Chari (*Annales d'Hyg. et Méd. colon.*, VI, 2, 1903, pág. 264.)—Ziemann.—Tsétsé Krankheit in Togo (*Berlin. klin. Woch.*, n. 40, 1902.)—A. S. Head.—Tsétsé fly disease amona mules in the Sudan (*Journ. of com. Pathol.*, XVII, Sept. 1904.) — A. Balfour. — (*Brit. med. Journal*, 26 Nov. 1904.)

(2) Nocard, loc. cit., pág. 616, t. II. — Havemann, Hausmann y Pfannenschmidt describieron por primera vez la enfermedad en 1821. — V. Hertwig: — Zur Beschälkrankheit (*Magazine für Thierkeilk*, 1847, pág. 373. — Viardot. — Considerations générales sur l'afection désignée par les arabes sous le nom de «el dourin» (*Journal de Médecine vétérin. militaire*, t. IV, 1865, 1866, página 587).—Saint-Cyr.—La dourine (*Journ. de Méd. veterin.*, 1878, página 15). — Rouget. — Contribution à l'étude des Trypanosomes des mammifères (*Annales de l'Inst. Pasteur*, 1896, pág. 717).

(3) Schneider y Buffard. — La dourine et son parasite (*Re-*

37. ***Trypanosoma equinum*** **(Voges, 1901; descubierto por Elmassian, 1901; sinónimo, *Trypanosoma Elmassiani*, Lignières, 1902); parásito de la sangre de los caballos, en los cuales determina una enfermedad llamada *Mal de caderas* (1).**

Observado en preparaciones directas de sangre en fresco, el *Trypanosoma equinum* Voges no presenta caracteres distintivos de las especies *Tr. evansi* y *Trypanosoma brucei*, ni del *Tr. equiperdum*. Las preparaciones teñidas con los métodos metacromáticos de Laveran ó de Wasilewsky revelan una particularidad específica en las dimensiones mínimas del corpúsculo basilar del flagelo (ó centrosoma de Laveran y Mesnil), que en las demás especies se presenta como una masa cromática de mayor relieve.

Dimensiones: 22 á 25 μ largo × 1 $^1/_2$—2 μ ancho. Las formas en proceso de multiplicación longitudinal pueden alcanzar hasta 28 μ de largo. El flagelo no mide más que 5 μ.

38. *Trypanosoma dimorphon* Dutton y Todd, 1904 (2), no puede considerarse como

---

cueil de Médecine vétérinaire, 1900, pág. 81, etc.). - Idem íd.—Parasitisme latente et immunisation dans la dourine (*Jour. de Médecine vétérin.*, 1902, pág. 144).

(1) Voges. — Das «Mal de caderas» (*Zeitschr. für Hygiene*, tomo XXXIX, 1902, pág. 323).—Zabala (*Anales del Departamento nacional de Higiene*, Buenos Aires, 1901, pág. 49). — Lignieres.—Contribución al estudio de la Trypanosomiasis de los Equídeos sudamericanos (*Boletín de Agricult. y ganadería* de la República Argentina, 1.° Septiembre 1902).—Idem, íd. (*Revista de la Sociedad Médica Argentina*, 1902, t. X. pág 481). — Tr. Sivori y E. Lecler.—Le surra americain ou Mal de caderas (Buenos Aires, Octubre 1902). — Elmassian y Migone (*Annales de l'Institut. Pasteur*, 1903, pág. 241). — A. Bachmann y P. de Elizalde (*Anales del Círculo médico argentino,* 31 Mayo 1903).

(2) Cazalbou.— Sur l'existence du *Trypanosoma dimorphon* en Guinée française (*C. R. Soc. Biol.*, 4 Mars 1905, pág. 395).

Trátase de dos caballos que, probablemente, se habían infectado en Guinea durante los primeros meses de 1904.

una variedad de la especie *Tr. brucei*, ya por sus caracteres morfológicos, ya por la sintomatología patológica específica que determina en el huésped (caballo; fiebre de los caballos de Gambia).

Otras formas de Trypanosomas, muy difícilmente distinguibles de las precedentes por sus caracteres morfológicos, han sido descritas en determinadas enfermedades de los caballos, bueyes y dromedarios, en estos últimos años.

Roger y **Greffulhe** (1) observaron en un caballo hemoglobinúrico, en Algeria, un Trypanosoma de las dimensiones siguientes: 22 á 26 μ (con flagelo) × $1\ ^1/_2$ — $2\ ^1/_2$ μ. Centrosoma muy claro, alejado de la extremidad opuesta á la del flagelo. Numerosas granulaciones protoplásmicas anteriores. Membrana ondulante con muchos pliegues.

Los hermanos **Sergent** han observado una infección espontánea del dromedario; pero la estructura del *Trypanosoma* parece completamente idéntica á la de las especies *Tr. evansi* y *brucei*, con caracteres comunes del uno y otro (2).

Recientemente, **Cazalbou** ha comunicado sus observaciones acerca de otra infección espontánea del dromedario en el Sudán francés. Trátase de un *Trypanosoma* también idéntico al *Tr. brucei*. La enfermedad que este parásito ocasiona en los dromedarios, llámase por los indígenas *Mbori* ó enfermedad de la mosca, y su manifestación clínica más evidente está representada, como siempre, por una anemia progresiva (3).

---

(1) *C. R. Soc. Biologie*, 5 Mars 1904, pág. 396.

(2) Note préliminaire sur un Trypanosome des dromadaires de l'Algérie (*C. R. Soc. Biol.*, 23 Enero 1904).

(3) **Cazalbou**.—Note sur un Trypanosome du dromadaire au Soudan français (Rapport). (*Bull. de l'Académie de Médecine*, 30 Junio 1903, pág. 807.)

Recientemente **Rennes**: Une trypanosomose nord-africaine (*Bu-*

39. *Trypanosoma Theileri* (**Laveran**, 1902); descubierto por Theiler en una enfermedad epizoótica de los bovídeos en el Transvaal *(Galziekte)* (1).

Esta especie se distingue, por varios caracteres, de las precedentes. Trátase de un Trypanosoma de 60 á 70 μ×4 á 5 μ. El blefaroplasto (ó corpúsculo metacromático) está situado muy cerca del núcleo y, por tanto, bastante alejado de la extremidad que **Laveran** llama posterior. Con el nombre de *Tr. transvaaliense* había sido descrita por **Laveran** mismo una forma distinta de la precedente, encontrada también en la sangre de los bovídeos. Creemos que las dos puedan identificarse, tratándose de períodos evolutivos del mismo parásito.

Llegamos así á la especie:

40. *Trypanosoma gambiense*, que reune las dos *Tr. gambiense* **Dutton**, 1902, y *Tr. ugandense* **Castellani** (ó *Tr. Castellani* **Kruse**), 1903.

Bien es verdad que la unidad nosológica de la Tripanosomiasis febril del Gambia, observada en el hombre por **Ford**, **Dutton**, **Manson**, etc., y de la enfermedad del

---

lletin Soc. centr. Méd. vétér., octava serie, t. X, 30 de Septiembre 1903, pág. 424), y Sur les caractères de l'inoculabilité du Trypanosome du mal de Zousfana *(Bull. et Mém. Soc. Centr. méd. vétér.*, 28 Febrero 1905) ha estudiado una enfermedad epizoótica entre los caballos del Norte de Africa, ya observada por **Szewczyk** (Note sur une Trypanosomose observée dans l'extrême sud-oranais, *Bull. Soc. Centr. méd. véter.*, 30 Abril 1003), distinta en sus caracteres clínicos de la *nagana*. La morfología del parásito corresponde, sin embargo, á la de *Tr. brucei.*

(1) A. **Theiler**.—A new Trypanosoma (*Journal of comp. pathol. and. ther.*, 1903).—A. **Laveran**.—(*C. R. Acad. des Sciences*, 1902, 3 Marzo y 3 Noviembre.)—**Schilling**.—(*Journal of tropical méd.*, 1903, pág. 47.)

sueño, considerada como sucesión de aquélla, no ha sido aún aceptada por todos los patólogos (1), pero, sin embargo, la mayoría de ellos considera—justamente, á nuestro entender—como demostrada la identidad del parásito encontrado por **Castellani** en Uganda, con el que los primeros observadores habían determinado en los enfermos de fiebre del Gambia.

Tr. gambiense, así en la sangre de los enfermos (formas bastante raras), como en el líquido céfalo-raquídeo (observado después de centrifugación) y en los animales de experimento inoculados, presenta los caracteres siguientes: dimensiones entre 17 × 1 $1/_2$ y 28 × 2-2 $1/_2$. La porción libre del flagelo puede faltar; otras veces, al contrario, el flagelo representa $1/_4$ ó $1/_8$ de lo largo del parásito. Membrana ondulante estrecha, delgada; blefaroplasto (ó centrosoma) bastante claro, aunque no parece llegar á las dimensiones, tiene en las especies *Tr. evansi*, *Tr. brucei*, etcétera, extremidad opuesta á la del flagelo, de forma variable, puntiaguda ó redondeada; granulaciones cromófilas en el protoplasma; existe á veces una vacuola cerca del blefaroplasto. Multiplicación por bipartición (existe probablemente una reproducción sexuada con ciclo evolutivo en otro huésped, hasta ahora desconocida). Trasmisión probable por los dípteros del gén. *Glossina (G. palpalis)* (1).

---

(1) Muy recientemente, H. G. **Plimmer** (del Lister Institute, Londres), ha dado cuenta de sus experimentos llevados á cabo con Trypanosomas de las dos variedades (Note on the effects produced on Rats by the Trypanosomata of Gambia Fever and Sleeping Sickness, *Proceedigs Roy. Soc.*, LXXIV, núm. 504, 24 de Febrero de 1905), habiendo resultado que 14 ratones inoculados con Trypanosomas procedentes de un caso de fiebre de Gambia, se infectaron rápidamente y manifestaron, á partir de la cuarta semana, gran cantidad de Tripanosomas en la sangre; al contrario, los ratones inoculados con Tr. procedente de un atacado de enfermedad del sueño no tuvieron nunca formas de Tripanosomas en la sangre, y sí sólo en el líquido céfalo-raquídeo y medula, habiendo presentado además un cuadro clínico del todo distinto. Fundándose en estos hechos **Plimmer**, sostiene que se trata de especies diferentes.

En contra de estas conclusiones están las de **Wolferstan** y **Liston** (loc. cit.), que habiendo experimentado con *Tr. gambiense*, con la especie *ugandense* y con otros de otras partes, procedentes de casos febriles ó crónicos en sus distintas fases, observaron las mismas reacciones por parte de los animales inoculados, y caracteres morfológicos absolutamente idénticos en todas las formas de parásitos; las de **Dutton**, **Todd** y **Christy** (*Brit. med. journ.*, 23 de Enero de 1904), que han llevado á cabo sus investigaciones sobre un número considerable de enfermos (707 individuos, 49 con Tripanosomas), y afirman que las mismas formas de Tripanosomas se encuentran en enfermos con síntomas de enfermedad del sueño ó sin ellos (período prodrómico, período agudo y febril), y que los ratones inoculados con *Tr.*, procedentes de enfermos letárgicos, presentaron formas de *Tr.* en todo semejantes é idénticos á *Tr. gambiense*. **Bruce** y **Nabarro**, **Brumpt**, confirman la precedente opinión, que **Laveran** y **Mesnil** sostienen en sus recientes publicaciones.

III

Tres cuestiones se nos presentan ahora para resolver, y el examen de cada una de ellas y las conclusiones que nos parezcan oportunas, debemos establecerlas sobre el fundamento de los datos anteriormente expuestos. Las tres pueden expresarse en esta forma:

1.° ¿Qué relaciones existen y pueden ponerse de relieve entre las varias formas de Trypanosamas hasta ahora observadas, y descritas como especies distintas?

2.° ¿Existe alguna relación entre la forma *Trypanosoma* y las formas endoglobulares encontradas como parásitos del mismo huésped? ¿Cuál es la sucesión del ciclo evolutivo del género *Trypanosoma*, sobre todo en lo que se refiere á la reproducción sexuada?

---

(1) El estudio más completo de estos dípteros, que ha llegado hasta hoy á mi conocimiento, es el de E. E. Austen: A monograph of the Tsetsé-flies (genus *Glossina* Westwood) basel on the collection of the British Museum (*Londres*, 1903, págs. 320, con 9 láminas). Se describen en esta Memoria detalladamente siete especies de estos dípteros (moscas tsé-tsé, género *Glossina*).

3.º ¿Puede establecerse hoy día una clasificación racional de los Trypanosomas dentro del cuadro general de los Protozoos plasmodromos?

Ya, al ordenar en sucinta sinopsis las especies de Trypanosomas hasta hoy descritas en los peces, batracios, reptiles, aves y mamíferos, hemos agrupado las formas de tal manera, que nos sería muy fácil ahora, adoptando y haciendo prevalecer un concepto puramente morfológico, poner de relieve los caracteres comunes y las afinidades entre muchas de las especies antedichas, las cuales, por tanto, no deberían considerarse más que como variedades de la misma especie. En este sentido resulta que las 17 especies descritas en los peces (á más del gén. *Trypanoplasma*) podrían reducirse á seis formas típicas: A, tipo *T. Remaki;* B, tipo *T. rajae*; C, tipo *Tr. soleae*; D, tipo *T. delagei;* E, tipo *T. barbatulae;* F, tipo *T. granulosum.* Y la misma crítica y consecuente reducción debería hacerse para las especies parásitas de las demás clases de vertebrados; siendo así que, por ejemplo, entre los Trypanosomas de los mamíferos *Tr. evansi* y *Tr. brucei*, podrían considerarse como variedades adaptadas por las distintas condiciones del medio ambiente y reacciones del huésped, de tal suerte que nos presentan pequeñas y secundarias diferencias de estructura; pero procedentes de la misma especie.

Hay, sin embargo, una razón que nos impide adoptar estos conceptos, y es que, tratándose de *parásitos* cuya adaptación al huésped es, según toda probabilidad, absoluta, definitiva y específica, los caracteres morfológicos no son ya suficientes, ni constituyen criterio de bastante valor para agrupar las formas ó separarlas; el criterio biológico se impone, y nos aconseja—hasta que nuevos datos no vengan á esclarecer más el asunto—*conservar como especies distintas todas las formas que viven en huésped distinto* (es decir, de distanta especie).

Bien es verdad que este criterio no puede aplicarse á ciertas formas de Trypanosomas de los mamíferos, como *Tr. evansi* y *Tr. brucei*, *Tr. dimorphon*, etc., que se encuentran como parásitos de las mismas especies de vertebrados. Faltando los caracteres morfológicos, y no pudiendo apelarse al criterio antedicho, hay que buscar las pruebas del valor específico de estas formas en otros argumentos biológicos.

R. Koch, á este propósito (1), hace una distinción absoluta entre dos clases de Trypanosomas de los mamíferos: pertenecen á la primera *Tr. lewisi* y *Tr. Theileri*, especies bien determinadas, cuyos caracteres biológicos son constantes y fijos *(parásitos de un solo género de mamíferos*, *Tr. Lewisi*, de los ratones; *Tr. Theileri*, de los bueyes); á la segunda pertenecen todas las demás formas de Trypanosomas de los mamíferos, cuya adaptación al huésped no puede considerarse como definitiva y constante; trátase de parásitos cuya virulencia es variable, y que no tan solo producen síntomas distintos en huéspedes nuevos, sino que ellos mismos presentan caracteres morfológicos, que se alejan más ó menos de los de la forma específica cuando se inoculan y se desarrollan en un huésped distinto del primitivo. Refiere Koch (loc. cit.), como ejemplos de esta variabilidad morfológica y adaptabilidad biológica, observaciones numerosas hechas en particular sobre *Tr. brucei*; entre ellas la de una yegua y un caballo, enviados á Berlín desde Togo (Africa), que se infectaron durante el viaje, de *nagana* (ó enfermedad de la mosca tsé-tsé). A las seis semanas de haber llegado á Berlín, el caballo cayó gravemente enfermo, presentó *Tr. brucei* en la sangre y murió á los cuatro meses. Todos los pequeños mamíferos inoculados con su sangre, murieron más ó menos pronto. Al contrario, la yegua se quedó en buena salud, á pesar de que los Trypanosomas patógenos existían efectivamente en su sangre; los animales inoculados no manifestaron trastorno ninguno, á excepción de un perro que falleció á los ciento dos días. Semejante diferencia, tan clara y evidente, entre las dos infecciones, hubiera podido depender de una condición especial de inmunidad de la yegua; mas la duda desapareció, porque al cabo de cierto tiempo (tres meses y medio), inoculada dicha yegua con la especie patógena extraída de la sangre del caballo, enfermó tan gravemente como éste y murió; debiendo admitirse, por tanto, que tratábase en realidad de dos variedades, distintas por sus caracteres biológicos, de *Trypanosoma brucei.*

---

(1) R. Koch.—*Deutsch. Medic. Wochenschr.*, 1904, núm. 47.

Estos resultados experimentales y otros muchos que Koch refiere, llevan á pensar que una parecida adaptación, por parte de forma tan variable, haya dado lugar á las manifestaciones clínicas y epidemiológicas distintas de la *surra* y de la *nagana*, enfermedades que al fin y al cabo afectan las mismas especies de mamíferos, y son propias, la una, del Oriente asiático, y la otra, del continente africano.

Es, por tanto, muy probable que la clasificación de especies del gén. *Trypanosoma*, aun teniendo en cuenta solamente estas relaciones y otras que pueden sorpecharse, entre algunas de las formas hasta ahora descritas y consideradas como *bonæ species*, deba someterse á total revisión.

Mas por otra parte, dudas y dificultades de mayor relieve se nos presentan con la segunda cuestión; es decir, al tomar en consideración las relaciones que puedan existir entre la forma de *Trypanosoma* y las formas de parásitos endoglobulares que se encuentran muchas veces en el mismo huésped.

En efecto, Schaudinn (loc. cit.) probó que los géneros *Halteridium* y *Hæmamæba*, parásitos de la sangre de *Athene noctua* (sin. *Carine n.*), se desarrollan sexualmente en el mosquito del gén. *Culex* (*C. pipiens*), dando lugar, por la fecundación del gameto femenino por el microgrameto, á un anfionte (ooquineto), que produce un cierto número de microorganismos, con todos los caracteres de los *Trypanosoma* (1). En el proceso evolutivo del gén. *Hateridium* (que Schaudinn llama *Trypanosoma, T. noctuæ*) la fecundación da lugar á la formación de ooquinetos indiferentes, masculinos y femeninos, siendo distinta la sucesiva transformación de los tres; pero, de todos modos, las pequeñas formas de Trypanosomas, que toman origen del ooquineto (particularmente numerosas las producidas por ooquinetos masculinos) son las que el mosquito introduce luego con su picadura en la sangre del huésped vertebrado. Penetran entonces estos Trypanosomas en el interior de los hematíes, alternando un primer período de vida endoglobular con otro sucesivo de vida libre en el plasma, y después de esta intermitencia se introducen otra vez en los glóbulos, alcanzan así mayores dimensiones, hasta llegar á la forma adulta, que permanece libre en el plasma (ó unida con los restos del corpúsculo rojo desecho), ya diferenciada en el microgametoblasto y macrogameto.

---

(1) Cfr. G. Pittaluga.—Sobre las afinidades zoológicas y evolución de los *Trypanosoma* (*Boletín de la Real Soc. Españ. de Historia Natural*, V, Abril 1905, pág. 1.902).

El proceso evolutivo de *Hæmamæba Ziemanni* (que Schaudinn llama *Spirochæte Ziemanni*) difiere en algo del precedente. El ooquineto indiferente produce, en esta especie, por el mismo proceso de división cariosómica múltiple (en el mosquito), gran número de pequeñas formas de Trypanosomas, que originan á su vez, por bipartición sucesiva y múltiple, una serie de microorganismos delgados, que pueden considerarse como verdaderos *Spirochæte*, correspondiendo á la forma y estructura típica de los descritos bajo el nombre de *Spirochæte Obermeieri* en la fiebre remitente del hombre, y *Sp. anserina*, en los patos. Estas formas de *Spirochæte*, así como otras que se encuentran en estado de *Trypanosoma*, pueden ser transmitidas por el mosquito al vertebrado, y en la sangre de este último permanecen, ya como *Trypanosoma* ó *Spirochæte*, ya como parásitos de los hematoblastos. Sucesivamente se determinan gametos femeninos y masculinos.

Resulta, en conjunto, que especies parásitas comprendidas hasta ahora entre los *Esporozoos endoglobulares*, deben hoy día completarse con las formas que afectan durante su evolución, no tan sólo en el huésped invertebrado, sino también en el mismo vertebrado, y que tienen todo el aspecto de flagelados del género *Trypanosoma*.

Ya, á consecuencia de estos descubrimientos, la especie *Trypanosoma avium* Danilewsky pierde enteramente su unidad, pues es evidente que, por lo menos, se han confundido en ella formas pertenecientes al ciclo evolutivo de *Halteridium*, que hoy llama Schaudinn *Trypanosoma noctuæ* (en el huésped *Athene noctua*) y formas del ciclo de *Spirochæte* (antes *Hæ-*

mamæba) *Ziemanni*. Y desde luego puede afirmarse que la misma confusión ha sucedido con parásitos semejantes en otras especies de aves, huéspedes á la vez de formas endoglobulares y de *Trypanosomas*. Hemos visto, por ejemplo, que Ed. y Et. Sergent han encontrado *Hæmamæba* en muchísimos individuos, de más de doce especies, que no presentaban *Trypanosoma* en la sangre.

Mas la importancia de las conclusiones de Schaudinn aumenta cuando se considera que la mayoría quizás de las formas endoglobulares clasificadas como *bonæ species*, encontradas y descritas en la sangre de animales que hospedan á la vez formas de *Trypanosoma*, sólo podrían representar una fase transitoria y evolutiva, un estadio de desarrollo del parásito, único en sus caracteres biológicos, pero en extremo variable bajo el aspecto morfológico en los momentos sucesivos de su proceso vital.

Billet ha visto penetrar en los hematíes, después de haber perdido el flagelo, el *Trypanosoma inopinatum* Sergent, de la sangre de las ranas, y ha descrito otras formas evolutivas del mismo parásito, idénticas á las que se interpretaban hasta ahora como pertenecientes á los géneros *Hæmogregarina* y *Lankesterella* (Drepanidium), que con mucha frecuencia coexisten en la sangre de un mismo individuo con las formas *Trypanosoma*. Por demás, ya en las descripciones clásicas de los caracteres específicos de *Lankesterella ranarum* Labbé (emend. *Drepanidium*) (1), se encuentran, como propios de un período de vida libre, en el plasma pequeños cuerpos (de 10 á 15 μ), con extremidad anterior puntiaguda, movilísimos, cuyo parecido con las formas de Trypanosomas es evidente. Y, por otra parte, el mismo Billet ha notado que en el tubo digestivo de ciertas sanguijuelas (*Helobdella*), ectoparásitos comunes de las ranas, se encuentran las formas evolutivas de *Tr. inopinatum*, tanto si existían Trypanosomas, como si tan sólo hallábase en la sangre del batracio sometido á la observación la forma endoglobular correspondiente.

---

(1) *Das Tierreich*, Sporozoa, par A. Labbé.—Berlín, 1899, página 74, fig. 137.

Sugieren estos hechos argumento importante para dudar del valor de especie por la forma *Tr. inopinatum*, así como también por las demás formas encontradas en la sangre de los batracios. En efecto, el hallazgo único y casual (en Kabilia Algeria); la contemporánea presencia de *Tr. sanguinis* (*rotatorium*), en sus formas comunes, en las ranas de la misma región; los caracteres morfológicos de *Tr. inopinatum* que refiere SERGENT (formas pequeñas, con blefaroplasto, en extremo variable por dimensiones y situación, la mayor parte de las veces muy cerca del núcleo), hacen pensar que nos encontramos enfrente de formas jóvenes, probablemente de reciente infección, con nuevas generaciones de origen sexuada, pertenecientes á la especie clásica *Tr. sanguinis*. Y, en realidad, no faltaban tampoco en las observaciones precedentes acerca de *Tr. sanguinis*, descripciones de formas parecidas, pequeñas, en la sangre de las ranas. Las formas gordas, con membrana ondulante muy desarrollada, quizás deban interpretarse como sexualmente diferenciadas para la sucesiva producción de macrogametos y microgametoblastos. Probablemente los quistes productores de microsporozoitos y macrosporozoitos, que se consideran (1) como características de la especie *Lankesterella* (*Drepanidium*) *ranarum* (2), y se forman periódicamente, representan una fase partenogenética de macrogametos y microgametoblastos (*rejuvenecimiento*), en el mismo huésped vertebrado, y no ya un producto de fecundación.

En lo que se refiere á los *Trypanosomas* de los peces, una tentativa de LÉGÉR nos ha proporcionado la prueba de su evolución (por lo menos de la especie *Tr. barbatulæ*, que debe tener grandes afinidades con *Tr. cobitis* de MITROPHANOW, y con el mismo *Tr. Remaki*), en el tubo digestivo de hirudineos del gén. *Hemiclepsis*. Falta, sin embargo, cualquier conocimiento acerca de sus formas y fases evolutivas en el organismo del vertebrado.

---

(1) LABBÉ, loc. cit., pág. 74.

(2) Y de los *Hæmosporidios* en general, gén. *Lankesterella*, *Caryolysus*, *Hæmogregarina*, *Acystis*.

Brumpt (1) ha observado, en el tubo digestivo de otras sanguijuelas *Placobdella catenigera*, formas de *Trypanosoma* que pertenecen, muy probablemente, al ciclo evolutivo de una *Hæmogregarina* de galápago, *Emys africana* (*E. leprosa*).

En los Trypanosomas de los murciélagos se han observado formas endoglobulares (Battaglia). Estos quirópteros (género *Vespertilio*, gén. *Vesperugo*, gén. *Miniopterus*, gén. *Myotis*, gén. *Phyllostoma*, etc.), hospedan, en proporción muy crecida, Hematozoos endoglobulares que varios investigadores han descrito como especies distintas, aunque muchas veces se encuentran contemporáneamente en la sangre formas de *Trypanosoma*. Queda por hacer el estudio de las posibles relaciones existentes entre éstas y aquéllas.

Es muy probable que también *Tr. Lewisi* presente una fase endoglobular, durante el primer período de su desarrollo, en un huésped nuevo (recientemente infectado). Pero esta forma endoglobular no se determina con las inoculaciones de sangre de otro animal infectado; sólo después de haber encontrado y establecido el medio natural de transmisión del *Trypanosoma* podremos aclarar este punto.

Moore (2), que ha estudiado recientemente una *tripanosomiasis* de los bueyes en Nigeria, llega á las conclusiones siguientes: «Se encuentran periódicamente en el plasma de los animales infectados pequeños cuerpos esféricos en cantidad extraordinaria, los cuales invaden, por fin, los hematíes y penetran en ellos, tomando forma de asas y aumentando así en sus dimensiones, siempre con un desarrollo intraglobular; por fin llegan á dimensiones más notables y vuelven libres en el plasma con todos los caracteres de *Trypanosoma*».

---

(1) Contribution à l'étude des Hæmogregarines et des Trypanosomes (*C. R. Soc. Biol.*, 23 Julio 1904, pág. 165).

(2) E. Y. Moore. – Some observations pointing to an intracorpuscular stage of development in the Trypanosoma. (*The Lancet*, 1.° Oct. 1904, pág. 950.)

Por otra parte, ROGERS (1), CHATTERJE (2) y otros autores han demostrado que una forma de parásito endoglobular *(Piroplasma)* del hombre, encontrada en varios casos de esplenomegalia tropical y de una enfermedad no bien definida (¿Kala-Azar?), puede adquirir (quizás siempre adquiere) el aspecto y estructura característicos de un *Trypanosoma*.

Todos estos hechos nos indican que una parte muy importante de la historia evolutiva y caracteres genéricos y específicos de los Trypanosomas queda para esclarecer; que desde luego tienen estos parásitos relaciones estrechas con determinadas formas endoglobulares, algunas de ellas consideradas hasta ahora como especies en la sangre del huésped vertebrado; que, por fin, una revisión completa de las formas de Trypanosomas se impone sobre el fundamento de estos resultados de la observación é investigación experimental.

Ahora bien: ¿podemos establecer, en el estado actual de nuestros conocimientos, una clasificación de las formas *Trypanosoma* que ponga en justo relieve las relaciones de estos parásitos con las formas afines en la serie filogenética de los protozoos plasmodromos?

Desde luego tenemos que declarar inaceptable la clasificación de IVES DELAGE (3), á la que nosotros nos referíamos aún en nuestro curso de Parasitología comparada en 1903-1904 (4). El criterio puramente morfológico sobre el cual se funda; la importancia secundaria concedida al grupo de los *Trypanosomas* (considerado como género de una tribu *Acraspedina*, perteneciente al sub-orden *Oligomastigidæ)*, alejado además este grupo de las formas afines, como los *Trichomonas*, nos impiden hoy día en absoluto adoptar el método taxonómico indicado y los conceptos que han presidido á su constitución.

---

(1) L. ROGERS.—Preliminary note on the development of Trypanosoma incultures of Cunningham-Leishmann Donovan bodies of cachexial fever and Kala-Azar. (*The Lancet*, 23 Julio 1904.)

(2) *The Lancet*, 7 Enero 1905.

(3) Traité de Zoologie concrète, vol. I.

(4) Lecciones de la Escuela de Estudios Superiores del Ateneo de Madrid, curso de 1903-1904.—Parasitología comparada.

Döflein (1) nos ha dado una clasificación bastante racional, y que, con algunas modificaciones, podríamos aceptar en su totalidad. Mas, por lo que se refiere á la situación de las formas *Trypanosoma* y *Trypanoplasma*, se nos presentan dudas y dificultades de varia clase. Tenemos que admitir que estos parásitos han tenido su origen de formas libres, quizás muy parecidas y afines á los actuales *Trichonomas* (vaginales ó intestinales) (2), según la interpretación de Leger, que considera *Trypanoplasma* provisto de dos flagelos, como un *Trichomonas* que haya perdido dos de los anteriores, y *Trypanosoma* como un *Trypanoplasma* que haya perdido su último flagelo anterior (sensitivo). Las relaciones morfológicas y biológicas de estas formas con los géneros *Herpetomonas*, estudiadas por Prowazeck (3), por el mismo Leger (4) y otros, y *Crithidia* (5), parecen comprobar la exactitud de esta opinión, tan claramente expresada por Leger con estas palabras: «Los directos progenitores de los Trypanosomas (por lo menos de aquéllos que poseen flagelo morfológicamente *anterior)*, deben buscarse entre los *Herpetomonas*, que cumplen todo su desarrollo en el organismo de insectos que no chupan la sangre de animales vertebrados (ejemplo: *Herpetomonas muscæ domesticæ)*; adaptaciones nuevas demuestran ya las formas de *Herpetomonas* que se hospedan y desarrollan en insectos hematófagos. Un medio ambiente muy distinto, enriquecido por la sangre absorbida por el huésped, y por éste digerida, debía producir modificaciones importantes en el proceso evolutivo de estos parásitos, destinados, por fin, á penetrar en el vertebrado de cuya sangre se alimentaba la especie hematófaga invertebrada. Los Trypanosomas de la sangre representan, por tanto, una adaptación secundaria de un parásito primitivamente intestinal ó entero-celómico de invertebrado, lo cual explica muy bien por qué deben volver á este huésped primitivo para llevar á cabo su reproducción sexuada». Pues bien; en este sentido podemos admitir también estrechas relaciones filogenéticas entre los Hematozoos endoglobulares — hablo de aquellas formas que no puedan aún considerarse como fases evolutivas de especies *Trypanosoma* —, parásitos de los hematíes de vertebrados, y esos flagelados primitivamente introducidos en la sangre de estos huéspedes por la picadura de los insectos hematófagos. *Plasmodium* y *Laverania*, por ejemplo, podrían considerarse — en su período de evolución asexuada, en el hombre — como formas adaptadas y modificadas morfológicamente, de tal suerte que hayan perdido todo recuerdo de la forma *Trypanosoma* (en su período de desarrollo sexual en los dípteros es muy posible que esta forma exista). En tal caso, ¿podríamos seguir tomando como base y fundamento de una distinción taxonómica el criterio morfológico, y considerar *Herpetomonas*, *Crithidia*, *Trypanosoma*, *Trypanoplasma* (y añadiremos hasta el n. gén. *Spirochaete)*, como pertenecientes á un orden de una clase de protozoos enteramente distinta de la que comprende las antedichas formas endoglobulares, es decir, los unos á la clase *Flagellata*, los otros á la clase *Sporozoa?*

---

(1) Loc. cit., *Protozoen*, etc., 1901, Iena.

(2) Por lo menos los Trypanosomas con flagelo morfológicamente *posterior* parecen derivar de estas formas. Es muy probable que hayan existido dos series filogenéticas de *Trypanosoma*.

(3) Die Entwicklung von Herpetomonas. (*Arbeiten aus D. Kaiserl. Gesund.*, XX, 1904.)

(4) *C. R. Soc. Biol.*, 24 Dic. 1904.

(5) *C. R. Soc. Biol.*, 1902. —*Arch. f. Protistenkunde*, II, 1903, página 180.

Creemos firmemente que los protozoos parásitos que constituyen el objeto de esta nota, deben estar agrupados y comprendidos en un orden particular que, recordando la filogenia y algunos caracteres morfológicos que hacen de semejantes formas verdaderos flagelados, vaya unido, sin embargo, con la clase *Sporozoa*, y represente en ella un importantísimo *trait-d'union* con las formas libres, de las cuales proceden todas las especies en ella comprendidas.

ittaluga, G.
03

RENDICONTI DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI
Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.
Estratto dal vol. XII, 1° sem., serie 5ª, fasc. 12°. — Seduta del 21 giugno 1903.

2

SULLA
PRESENZA E DISTRIBUZIONE DEL GENERE ANOPHELES
IN ALCUNE REGIONI DELLA PENISOLA IBERICA
E SUOI RAPPORTI COL PARASSITA DELLA MALARIA UMANA

NOTA

DEL DOTT.

GUSTAVO PITTALUGA

* * *

ROMA
TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI
PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI
1903

Zoologia. — *Sulla presenza e distribuzione del genere Anopheles in alcune regioni della penisola Iberica, e suoi rapporti col parassita della malaria umana.* Nota del dott. GUSTAVO PITTALUGA, presentata dal Socio B. GRASSI.

Dall'agosto al dicembre del 1902 ho compiuto, specialmente in Catalogna, una serie di ricerche sulle manifestazioni locali della infezione malarica, delle quali rendo conto in un'altra Nota. Contemporaneamente, ho avuto modo di raccogliere i dati relativi alla presenza e diffusione delle zanzare del genere *Anopheles*, non solo nel territorio della provincia di Barcellona, ma anche in quelli di Valenza, di Madrid, di Guadalajara, e nelle isole Baleari.

Queste osservazioni personali sono state continuate, in parte, durante i mesi scorsi del 1903; e se ad esse si aggiungono i dati fornitimi da medici e naturalisti spagnuoli, appunto in cotesti periodi di tempo (1), si può dire

(1) Voglio cogliere questa occasione per ricordare e ringraziare il prof. Odon de Buen, zoologo dell'Università di Barcellona, che mi ospitò per qualche tempo nel suo gabinetto; il dottor Turrò della Academia de Ciencias medicas de Cataluña, che mi fu largo di tanta cortesia; ed altri molti ai quali debbo notizie, aiuti e cooperazione.

che noi possediamo oggi una nozione generale sui rapporti fra la malaria umana e il genere *Anopheles* nella penisola iberica, la quale conferma interamente i concetti etiologici ed epidemiologici sostenuti per primo da Grassi in Italia.

Debbo qui ricordare come nel 1899, il dottor I. Macdonald, medico della Compagnia mineraria di Rio Tinto (provincia di Huelva) in seguito alle scoperte sul ciclo evolutivo degli emosporidi della malaria, abbia cercato per il primo, in Ispagna, cotesti rapporti fra l'endemia e l'infezione (nella parete intestinale e nelle ghiandole salivari) degli *Anopheles*. I risultati delle sue osservazioni comparvero successivamente sul Siglo medico di Madrid, e sul British Medical Journal (¹); e furono poi riuniti in monografia (Parigi, 1902). Recentemente, al Congresso internazionale di Medicina di Madrid, ebbi grata occasione di osservare i preparati del dottor Macdonald e di avere da lui stesso altre informazioni.

Il suo campo di studio era limitato a quella zona di aridi terreni metalliferi nell'alto, acquitrinosi a valle, compresa fra le mine di rame del Rio Tinto a nord d'Huelva, e gli sbocchi dell'Odiel e del Rio Piedras al mare.

Nei limiti di questo territorio furono osservate poche località indenni da infezione malarica, fra le quali si ricorda particolarmente la *Playa de Punta Umbria*, dove le poche case si trovano in terreno arenoso e sembra che tutte le acque siano molto salate. È singolare, tuttavia, che a pochi chilometri (non più di quattro o cinque) da questa striscia di spiaggia, si trovino luoghi gravemente colpiti dall'infezione, come in generale le case e le capanne circostanti alla così detta *marisma d'Almacete* ed anche le vicine stazioni di *carabineros* (finanzieri).

Ad ogni modo, Macdonald ha trovato in questa e nelle poche altre località non malariche endemicamente, varie specie di *Culex*; precisamente:

1. *Culex pipiens;*
2. » *elegans;*
3. » *phytophagus;*
4. » *spathipalpis;*
5. » *penicillaris.*

Invece, in tutte le località colpite dalla infezione (sempre dentro i limiti sopradetti della provincia di Huelva), ha trovato:

1. *Anopheles claviger* (*maculipennis*)*;*
2. » *pictus* (*pseudopictus*, Grassi).

Durante le stagioni malariche 1901 e 1902 egli ha cercato di stabilire, almeno in piccole zone, la percentuale di *Anopheles* infetti nella parete inte-

---

(¹) Siglo Medico 1900, pag. 437 e 449: *Investigaciones modernas sobre el paludismo*; ibid. 1902, 3 agosto, pag. 483. Brit. Med. Jour., 1900, I, pag. 270, e seg.

stinale e nelle ghiandole salivari; i suoi dati non differiscono a questo proposito da quelli stabiliti in Italia *nelle regioni meridionali e in rapporto con le infezioni estivo-autunnali* (dominanti, con gravi forme perniciose, di Huelva); ma debbo qui mettere in rilievo che, contrariamente a quanto trovarono alcuni ricercatori (per esempio il Testi in Italia, Grosseto 1901), Macdonald trovò rare volte i corpi di Ross negli *Anopheles*. Non gli parve possibile metterli in rapporto con fatti epidemiologici.

All'infuori delle osservazioni di questo autore, non si avevano che dati negativi, sulla coincidenza fra la distribuzione dei Culicidi in generale, degli *Anopheles* in ispecie, e la distribuzione della malaria umana, nella penisola iberica.

Malgrado che i buoni lavori dottrinali di Gil y Morte, professore all'Università di Valenza (1), e di Rioja y Martin, professore in quella di Oviedo (2), avessero valso a diffondere in Ispagna la conoscenza di nuovi concetti etiologici della infezione malarica, si ebbero solo, durante gli anni 1901-1902, tentativi di obiezioni, in parte anche fondate su pretese osservazioni. Tali quelle di Gonzalez Rey (3) di Pascual de Sande (4), di Sarmento (5) etc., in parte radunate e commentate da Rodriguez Mendez (6). Io ho ad esse risposto, in varî punti del volume pubblicato nell'occasione del XIV Congresso Internazionale di Medicina *Investigaciones y estudios sobre el Paludismo en España*, sopratutto con dati di fatto.

Così, per esempio, mentre il dottor Pascual de Sande, sul *Medico titular* (loc. cit.) aveva asserito di aver accertata la mancanza di larve e di adulti del genere *Anopheles* nei territorî paludici del Rio Jarama (Moraleja ecc.), io ho invece trovato moltissimi *Anopheles* (anche infetti) appunto lungo le rive di questo fiume, in provincia di Madrid.

Nel 1901 furono raccolti dai dottori Huertas e Mendoza i dati relativi alla provincia di Cáceres (Estremadura). Questi autori rinvennero abbondantissime le specie: *Anopheles claviger* (sopratutto), *A. pseudopictus* e *A. superpictus*, osservarono l'infezione in numerosi esemplari di quella prima, e condussero anche a termine un piccolo esperimento di profilassi meccanica, abbastanza dimostrativo, di cui si dà conto nel volume sopra citato (7).

Dopo di queste non mi resta che a ricordare alcune ricerche di Bettencourt Ferreira in Portogallo (¹); non mi consta che sieno state pubblicate da altri osservazioni positive in altre regioni.

---

(1) *El paludismo*, Valencia, tipogr. del Mercantil valenciano, 1900.

(2) *Conoscimento del Ciclo evolutivo completo de los parásitos que originan en le hombre las Uamadas fiebres paludicas*. Discurso inaugural, Oviedo, 1902.

(3) Rivista medica di Levilla, 80 gennaio 1900.

(4) *El medico titular*, settembre 1902.

(5) *A medicina contemporanea*, Lisboa, 20 e 27 gennaio 1901.

(6) Gaceta medica Catalaña, 30 sett.-31 dicembre 1902; sopratutto v. pag 751.

(7) *El paludismo y su prophilaxis en la provincia de Cáceres*, 1902.

Le mie ricerche personali si svolsero dapprima nel territorio del bassopiano del Llobregat, fiume che sbocca a circa 20 chilometri di distanza a sud di Barcellona. Il delta di questo fiume si distende per oltre quindici chilometri dalle falde argillose di un terreno quaternario, che domina in tutta l'alta vallata, e forma i bordi del letto fluviale. I paesi di Prat de Llobregat, Cornellà, Viladecans, Gavà, Castelldefels, sopratutti, situati nel piano, sono notevolmente malarici.

Le condizioni idrografiche di questo territorio sono tipiche dei luoghi palustri. Verso il mare, stagni di notevole grandezza, con acque tuttavia dolci, permettono ancora la vita e lo sviluppo degli stadî larvali del genere *Anopheles*. Ma sopratutto questi si sviluppano nei paludelli e fossati che innumerevoli s' incontrano al disotto della strada ferrata da Barcellona a Valenza.

Durante il mese di agosto le larve di *Anopheles* erano numerosissime in tutte le acque superficiali; diminuirono di molto nel mese di settembre: ma se ne trovavano di nuovo molte in ottobre. In seguito la diminuzione fu rapida: tuttavia si trovarono larve ancora nel novembre, non mai però nelle acque più alte, sempre nelle piccole raccolte foveali, ecc.

Nelle vicinanze delle case (per esempio a Casteldefels dove ho avuto campo di compiere una più accurata indagine per la cortese ospitalità del sig. Molinari, direttore di una fabbrica di materiali da costruzione), ho veduto spesse volte larve di *Culex* e larve di *Anopheles* nelle medesime raccolte d'acque, specialmente in piccole pozze, in tinozze e barili ripieni di acqua piovana.

L'*Anopheles claviger* è di gran lunga il più importante per ciò che riguarda la trasmissione della malaria umana, sopratutto perchè abita quasi sempre in contatto con l'uomo. Ma io ho trovato *A. pseudopictus* e *A. bifurcatus* nelle medesime località. Perciò che si riferisce, appunto, alle condizioni dell' *habitat*, si confermano interamente le osservazioni tanto minuziose di Grassi, quelle di Ficalbi e di altri.

Nel paese di Prat de Llobregat abbondano straordinariamente i *Culex;* al contrario scarseggiano molto gli *Anopheles*. Nella casa del medico del paese, dottor Salgot, fu trovato nel mese di agosto un solo esemplare di *Claviger*. Invece nelle case di campagna, pur non molto lontane, a un chilometro dal paese sono già abbondantissimi gli *Anopheles*. Questo fatto sembra dimostrare ancora una volta che gli *Anopheles* si allontanano di poco dai loro focolari di origine. A questo proposito ricordo che il 27 settembre (1902) essendo disceso da quel sobborgo di Barcellona che si chiama la Bordetta, lungo il ramo finale del canale della infanta Carlotta, ho voluto esaminare

---

(¹) *Sezoes ou malaria* (A Medicina contemporanea, Lisboa, numero 24-28, 1902).

le poche case disseminate lungo le falde del Montjuich sino al cimitero, per cogliere i limiti di diffusione e di elevazione degli *Anopheles* e determinare se fosse possibile e facile la loro entrata in città da cotesta parte.

Gettando un'occhiata sulla cartina da me disegnata che rappresenta il Delta del fiume Llobregat, e che accompagna il volume già citato, si vede bene come la roccia del Montjuich costituisca un notevole ostacolo frapposto tra la città di Barcellona e il piano malarico, che si distende a sud per oltre 25 chilometri. La costa del Montjuich è ripida e scoscesa e mancante di case abitate. In quelle poche che circondano il cimitero erano scarsissimi gli *Anopheles* e gli abitanti assicuravano che le zanzare non vi cagionano mai grande molestia. È molto probabile che a ciò contribuisca il gran vento di aperto mare che batte assai di frequente contro coteste pareti del monte e per cui gli *Anopheles* non si sollevano e non si allontanano dai luoghi di loro diretta origine, nel piano irriguo pur non molto distante.

Quando si consideri adunque che malgrado la poca elevazione del Montjuich esso costituisce una barriera che gli *Anopheles* non superano (per il vento; perchè mancano le abitazioni e quindi le tappe ed il cibo; perchè le falde sono scoscese e rocciose), quando si aggiunga che la via del mare, verso il porto di Barcellona, è strettissima e frequentata soltanto dai cortei funebri fra la città e il cimitero; non rimane aperta agli *Anopheles* della campagna di Llobregat che la via ad ovest, per il sobborgo di Sans, per introdurre in Barcellona qualche infezione presa di fuori.

La qual cosa avviene certo con molta frequenza poichè di lì entrano i carri che hanno percorso la strada di Castell de Fels e del Prat, ripetendosi il fatto tante volte osservato sulle vie che da Ostia, da Fiumicino, da Ponte Galera, da Castel Giubileo ecc. convergono alle porte di Roma.

Del resto debbo dire senz'altro che anche nell'interno della città di Barcellona non mancano focolari, forse transitorî, di *Anopheles*. Durante l'estate quasi tutti i quartieri della città sono invasi da *Culex* (*Pipiens*); non solo i più bassi lungo la così detta Rambla (corso) ma anche la parte nuova (ensanche). Quando ebbi notizia della esistenza di vere febbri malariche nei sobborghi e anche nei quartieri della città, rivolsi appunto le mie ricerche alla determinazione di cotesti focolai. Con l'aiuto del personale addetto alla cattedra di storia naturale del prof. Odon de Buen, che mi è doveroso ricordare e ringraziare, trovai a più riprese le larve degli *Anopheles* in alcune acque mal rinnovate del parco e giardino zoologico, situato a nord della città (agosto e settembre); più tardi anche in una vasca del giardino botanico annesso all'edificio della Università.

Pochi *Anopheles* adulti mi furono portati, frammisti con molti *Culex* dall'orto di una villa del sobborgo della Buonanova (calle Ganduxser, n. 131). Alcune femmine ibernanti furono trovate in seguito negli edifici militari prossimi al parco.

Mi resta a dire brevemente della infezione degli *Anopheles* osservata in Castell de Fels. Un esame sistematico delle femmine (*claviger*) raccolte nelle abitazioni, fu eseguito solamente in Castell de Fels, che deve ritenersi d'altra parte, come il punto più malarico di tutta la costa.

Dal 20 di agosto al 30 di settembre il corso della infezione degli *Anopheles* fu in proporzione discendente (¹). Faccio notare subito che i 200 operai della fabbrica già ricordata, del sig. Molinari, i quali costituivano, insieme con pochi impiegati della stazione ferroviaria, la totalità degli abitanti di quella contrada, erano contemporaneamente sottoposti a una cura non metodica, ma tuttavia efficace per diminuire il numero dei parassiti e lo sviluppo delle loro forme sessuate nel sangue. Alla fine di agosto incontravamo sopra 30 o 40 esaminati un *Anopheles* infetto nel tubo dirigente, il che costituisce ancora una proporzione molto considerevole e di sufficiente potenzialità epidemica. Durante il mese di settembre diminuirono molto i *Claviger* nell'interno delle abitazioni, e diminuì anche la proporzione degli infetti. In seguito a piogge abbondanti e nei giorni che seguirono a una prima inondazione del fiume Llobregat (²) i *claviger* comparvero numerosi nelle case (in qualche luogo il fatto fu notato come una vera invasione), e le femmine accompagnate da qualche maschio. Evidentemente gli agenti meteorici determinavano l'inizio del periodo di ibernazione.

In quel medesimo periodo scoppiarono molte recidive. Ora io mi domandava se cotesti fenomeni meteorici non potessero avere indirettamente una certa efficacia per la ulteriore ripresa di brevi periodi epidemici di vere infezioni primitive. Alla fine di ottobre e poi nel novembre feci a questo proposito l'esame delle glandole salivari di molti *Anopheles* trovati nelle condizioni suddette in una delle case dove avevano dormito persone con febbri recidive. Questo esame diretto, a fresco, per la ricerca degli sporozoiti nelle ghiandole salivari, rappresenta per così dire un semplice metodo clinico i cui risultati spesse volte dubbiosi e difficili da interpretare mal servirebbero per una statistica, ma possono essere utili per avere appunto qualche dato sull'inizio delle nuove possibili infezioni primitive. Verso la fine di novembre io trovai realmente alcuni di cotesti *claviger* infetti nelle glandole salivari.

Sebbene sia mancata in questo caso la ulteriore determinazione di un rapporto diretto fra questa infezione degli *Anopheles* e lo scoppio di febbri primitive, tuttavia quel dato rimane a stabilire la possibilità di questo fatto e la relativa importanza dei fattori meteorologici a cui abbiamo accennato poc'anzi.

(¹) Parlo quì della presenza di Amfionti nella tunica dell'intestino e non della infezione delle glandole salivari. Non descrivo i metodi che sono quelli adottati da Grassi (Vedi *Studi di uno zoologo sulla malaria*, seconda edizione, 1902).

(²) Nel mese di ottobre; poichè nel dicembre se n'ebbe una maggiore, alla quale si riferiscono le figure a pag. 135 e seg. del volume già citato sul *Paludismo in Spagna*.

In Sampedor, paese del distretto di Manresa, appartenente ancora alla provincia di Barcellona, alto 450 metri sul livello del mare, e luogo di lieve malaria endemica, si sviluppò, durante i mesi estivi del 1902, una grave epidemia tifica e malarica insieme. Questo caso di Sampedor diede luogo a discussioni e polemiche locali dipendenti appunto dalla interpretazione di questi fatti epidemiologici e delle loro cause. Io, recatomi sul luogo, ebbi a constatare che le condizioni idrografiche del territorio di Sampedor, e in particolare lo stato delle acque superficiali nelle immediate vicinanze del paese, permettevano assai bene lo sviluppo delle larve dei *Culicidi* in genere, e degli *Anofeli* in ispecie. Trovai inoltre, nel mese di novembre, parecchi esemplari di *claviger* in alcune case del paese, e nelle sue vicinanze anche di *bifurcatus* (27 novembre).

Numerose ricerche furono fatte, durante la prima metà di ottobre, da me e dal dott. Pijoan nella provincia di Valenza, precisamente nei paesi di Carcagente, Tabernes de Valdigna, Gandia, Cullera, Favareta, e nei villaggi situati intorno alla grande laguna detta *Albufera*, cioè il Palmar, Catarroja, Silla, Sollana, Alfafar ecc. Dappertutto trovammo i *claviger* molto abbondanti nelle case e nelle stalle. Debbo qui ricordare che in alcune gite compiute insieme col prof. Eduardo Boscà, zoologo della università di Valenza, trovammo esemplari di *claviger* i quali, sebbene non presentassero caratteri differenziali rilevanti, tuttavia raggiungevano dimensioni molto superiori a quelle medie della specie (11-11$^1/_2$ millimetri con la tromba), ed avevano le macchie dalle ali più intensamente segnate.

La macchia intermedia, sulle venule trasverse, appariva *sempre* completamente biloba.

Nel villaggio del Palmar, molto malarico, caratteristico perchè interamente costruito di capanne sopra una rete di canali presso la Albufera, si trovarono *Culex spathipalpis* ed anche parecchi *Culex malariae* (sinonimo *Culex vexans*). Sembra che i *pipiens* vi manchino affatto.

Tutto l'esteso territorio tra la Albufera al nord, il fiume Jucar, e al sud, sino verso Gandia, è occupato da risaie. Le notizie storiche che si hanno da un lato intorno alle condizioni della malaria locale, da un altro lato intorno alla coltivazione del riso in questa regione, tendono a dimostrare che dacchè quest'ultima ha preso un grande sviluppo, l'intensità della infezione malarica è diminuita alquanto (1). Ebbi a questo riguardo anche notizie e dati personali dal dott. Luigi Comenge, Direttore dell'ufficio d'igiene di Barcellona. Tuttavia io faccio rilevare che le condizioni di insalubrità per malaria sono ancora tali, in tutto cotesto territorio, da non permetterci di indurre che la coltivazione del riso costituisca un beneficio per la salute pubblica. E d'altra parte gli stati larvali degli *Anopheles*, nelle acque delle risaie sono stati trovati da me in questi luoghi, come in Italia ed altrove.

---

(1) In una *Topografia medica de Valencia y su zona* edita nel 1879, il dott. Giovanni Battista Peset y Vidal fornisce dati a questo riguardo molto importanti, relativi anche alla limitrofa provincia di Castellon de la Plana.

Anopheles, *claviger* e *bifurcatus* adulti furono pure trovati, durante la prima settimana di ottobre in quantità considerevole nella stazione di Almenara (provincia di Castellon della Plana, ferrovia da Valenza a Barcellona), e in molte case di Cihilches, ed altri luoghi della costa.

Popo più tardi ebbi occasione di recarmi, da Madrid, a compiere alcune osservazioni nella prossimità di S. Fernando, sul fiume Jarama, che attraversa la strada ferrata al km. 19-20.

Insieme con lo studente di scienze naturali D. Luis Lozano, in due case nella prossimità del fiume, circa un chilometro al di sotto della stazione ferroviaria (figg. 8 e 9) ho catturato, in giorni differenti, un gran numero di *claviger* (i quali parevano però già disposti per la ibernazione). Le due case erano situate l'una proprio all'altezza della sponda del fiume, a 20 metri da questo, circondata di pozze d'acqua molto abbondanti; l'altra, invece, sulla costa, che sale ripida per un trenta metri d'altezza; ed è degno di osservazione che gli *Anopheles* erano molto più abbondanti in questa seconda che nella prima, nella quale dormiva tutta una famiglia. Di questa famiglia era ammalata di febbri, a forma terzanaria, la moglie del colono (l'esame del sangue fu poi praticato a Madrid: negativo?); anche un bambino aveva avuto febbri intense e prolungate durante il mese di settembre. Degli *Anopheles* raccolti fu fatto l'esame, in più volte, nell'Ospedale generale di Madrid (reparto del dott. Huertas, e laboratorio diretto dal dott. A. Mendoza); soltanto uno fu trovato infetto nelle ghiandole salivari (18 ottobre), nessuno nella tunica dell'intestino medio.

Osservazioni di qualche interesse ebbi pure occasione di compiere nell'isola di Mallorca (Baleari), durante il mese di settembre 1902 (¹).

Si debbono al dott. Fajarnés (²) alcune precedenti osservazioni sui parassiti malarici in infermi delle vicinanze di Palma, capitale dell'isola. Ma che

---

(¹) Per ciò che riguarda i dati storici sulle condizioni della malaria nelle Baleari, mi preme di ricordare qui solamente un libretto di Claudio Francesco Passerat de la Chapelle, medico dell'esercito francese (1764), tradotto da poco allo spagnuolo: *Reflexiones generales sobre la isla de Menorca, su clima, el genre de vida de sus habitantes y las enfermedades que en ella reinan* por el doct. etc., traduccion. Maon, 1901, nel quale sono contenute molte osservazioni veramente interessanti.

Un'opera egualmente degna di essere tenuta in gran conto è quella di George Clegorn: *Observations on the epidemical diaeases in Menorca*, from the year 1744, to 1749. London, 1753.

(²) *Notas sobre el micro-organismo de la malaria*, in: Rev. balear de ciencias medicas, Palma 1890, pp. 236-238 etc.

io sappia, nessuno aveva compiuto la ricerca degli *Anopheles* e osservato i loro rapporti con la distribuzione della malaria nell'isola.

Tanto nei luoghi visitati lungo la costa ai due lati di Palma e sulla strada di Felanitx sopra un terreno quaternario che si continua oltre i cinque o sei chilometri con una grande estensione di miocene superiore e medio, interrotto da striscie di alluvione recente che discendono sino al mare (villaggio di San Giorgio, torrente de Jueus, Ca' Republicans), quanto nel territorio di Alcudia e della Albufera al nord dell'isola, io constatai la presenza del genere *Anopheles*, catturai numerosissimi esemplari di *claviger* ed alcuni di *bifurcatus*, ebbi modo infine di confermare per la maggior parte i dati relativi all' *habitat* delle larve e degli adulti dei due generi *Anopheles* e *Culex*. A proposito della specie *bifurcatus* debbo dire che i pochi esemplari esaminati (adulti), si avvicinavano moltissimo, per i caratteri delle ali e per la dimensione, alla varietà descritta dai Sergent in Algeria, e da essi classificata come « bona species » sotto il nome di *Anopheles algeriensis* (¹). In realtà gli stessi Sergent ammettono che i caratteri distintivi siano molto lievi; aggiungono anzi che l'*Anopheles algeriensis* può considerarsi come la forma vicariante dell'*Anopheles bifurcatus* in Algeria. Essi fanno rilevare che i *bifurcatus* incontrati in Algeria (*A. algerienses*) sono più corti dei parigini; ma questo carattere non ha grande importanza perchè le cifre relative a quei primi non si discostano dai limiti minimi della specie; piuttosto possono riferirsi alla varietà *nigripes*, o a quelle *forme intermedie* a cui già accennava Grassi, a pag. 118 della seconda edizione degli *Studi di uno zoologo sulla malaria.*

I caratteri riguardanti le nervature trasversali anteriori e posteriori, addotti dai fratelli Sergent, non costituiscono dati sufficienti neppure per una varietà, nonchè per una specie.

I soli caratteri che sembrano discostarsi alquanto da quelli fissi della specie *bifurcatus*, sono quelli relativi alle setole mediane e angolari delle larve, giacchè i Sergent hanno osservato tre volte sopra 46 coteste setole munite di ramuscoli o peluzzi. Questa proporzione non è sufficiente a stabilire il carattere con assoluta certezza. Noto che Grassi e Noè scrivevano a pag. 118 dell'opera citata: « le larve (di *bifurcatus*) si distinguono dalle altre per l'assoluta mancanza di ramuscoli sulle setole angolari, le quali sono perciò affatto semplici; setole mediali affatto semplici. Anomalamente tanto le une quanto le altre possono essere biforcate; anche in questo caso però le setole sono affatto sprovviste di ramuscoli o peluzzi ».

Io non mi credo in alcun modo autorizzato a interpretare i pochi caratteri differenziali dei *bifurcatus* adulti incontrati nell'isola di Mallorca, come sufficienti alla determinazione di una specie, sebbene corrispondano interamente

---

(¹) Annales de l'Institut Pasteur, 1902; e gennaio 1903.

a quelli descritti per l'*Anopheles algeriensis*. Ritengo invece che possa trattarsi di varietà intermedia fra il *bifurcatus* e il *nigripes*, da cui secondo Staeger (1839) era venuto il nome a tutta la specie, appunto perchè molto frequente.

In complesso, considerando bene i caratteri delle specie degli *Anopheles* proprî della penisola iberica, si vede come essi non possano contribuire a quelle minuziose distinzioni di specie che hanno dato il modo a Theobald di arricchire smisuratamente la terminologia tassinomica. Non mi trattengo intorno a questo argomento perchè già il Bordi (¹), ed altri commentarono e criticarono le conclusioni di cotesto autore.

Restano come specie sicure della penisola iberica le quattro che da Ficabi e da Grassi furono tanto esattamente descritte in Italia, e cioè *Anopheles pseudopictus*, *A. superpictus*, *A. claviger*, *A. bifurcatus*.

Debbo rilevare infine, che nella penisola iberica si trova il genere *Aëdes*, il quale nè da Grassi, nè da Ficalbi, è stato trovato in Italia.

(¹) *Contribuzione alla sistematica dei culicidi* etc. (Rend. d. R. Acc. dei Lincei, 7 dibembre 1902).

randi, M.

③

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1901 **THÈSE** N° –

POUR

Le Doctorat en Médecine

Présentée et soutenue le Jeudi 14 Février 1901, à 1 heure

PAR

M. PITTI-FERRANDI

Né à Bastia, le 16 Novembre 1876.

LE PALUDISME

ET

L'ASSAINISSEMENT DES RÉGIONS PALUSTRES EN CORSE

Président : M. DEBOVE, professeur.
Juges : MM. BUDIN, professeur.
GILBERT et WALLICH, agrégés.

Le candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur les diverses parties de l'enseignement médical

PARIS
ANCIENNE MAISON JOUVE
Imprimerie de la Faculté de Médecine
L. BOYER
15, RUE RACINE, 15
—
1901

Paras. Port.

UNIVERSITÉ DE PARIS — FACULTÉ DE MÉDECINE

Doyen : M. BROUARDEL.

PROFESSSEURS	MM.
Anatomie	FARABEUF
Physiologie	Ch. RICHET
Physique médicale	GARIEL
Chimie organique et chimie minérale	GAUTIER
Histoire naturelle médicale	BLANCHARD
Pathologie et thérapeutiques générales	BOUCHARD
Pathologie médicale	HUTINEL DEBOVE
Pathologie chirurgicale	LANNELONGUE
Anatomie pathologique	CORNIL
Histologie	Mathias DUVAL
Opérations et appareils	TERRIER
Pharmacologie et matière médicale	POUCHET
Thérapeutique	LANDOUZY
Hygiène	PROUST
Médecine légale	BROUARDEL
Histoire de la médecine et de la chirurgie	BRISSAUD
Pathologie expérimentale et comparée	CHANTEMESSE
Clinique médicale	POTAIN JACCOUD HAYEM DIEULAFOY
Maladies des enfants	GRANCHER
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale	JOFFROY
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	FOURNIER
Clinique des maladies du système nerveux	RAYMOND
Clinique chirurgicale	BERGER DUPLAY LEDENTU TILLAUX
Clinique ophtalmologique	PANAS
Clinique des maladies des voies urinaires	GUYON
Clinique d'accouchement	BUDIN PINARD

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.
ACHARD
ALBARRAN
ANDRÉ
BONNAIRE
BROCA Auguste
BROCA André
CHARRIN
CHASSEVANT
DELBET

MM.
DESGREZ
DUPRÉ
FAURE
GAUCHER
GILLES DE LA TOURETTE
HARTMANN
LANGLOIS
LAUNOIS
LEGUEU

MM.
LEJARS
LEPAGE
MARFAN
MAUCLAIRE
MÉNETRIER
MERY
ROGER
SEBILEAU
TEISSIER

MM.
THIERY
THIROLOIX
THOINOT
VAQUEZ
VARNIER
WALLICH
WALTER
WIDAL
WURTZ

Chef des Travaux anatomiques .... M. RIEFFEL

Par délibération, en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A mon Père et à ma Mère

A qui je dois tout, je dédie cette thèse comme un faible témoignage
d'un amour et d'une reconnaissance infinis.

A LA MÉMOIRE DE MON ONCLE :

Le Docteur Pitti-Ferrandi

Sénateur de la Corse

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE :

MONSIEUR LE DOCTEUR DEBOVE

Professeur de clinique médicale
Membre de l'Académie de médecine
Officier de la Légion d'honneur

Le Paludisme et l'Assainissement des régions palustres en Corse

Introduction

Le Paludisme fait les plus grands ravages en Corse. Toutes les plaines de l'île en sont infestées et la population agricole lui paie un cruel tribut.

Sous un climat merveilleux et dans les terres les plus fertiles, les Corses ne peuvent exploiter les richesses de leur sol, qu'en s'exposant à une maladie qui les rend infirmes et souvent les tue.

Réduits ainsi à la misère et à l'émigration les paysans désertent les champs, ils s'expatrient, ou bien retirés dans les montagnes stériles, ils mènent une vie oisive et misérable qui les conduit aux pires habitudes et leur crée les plus fâcheuses situations.

Le Paludisme est donc en Corse un facteur primordial de déchéance matérielle et morale, et l'assainissement comme l'a dit Blanqui en 1838, est encore aujourd'hui une question de vie ou de mort pour notre pays.

C'est pourquoi, né en Corse, appelé à y exercer ma profession, j'ai cru devoir apporter cette contribution à l'œuvre capitale. Je ne puis me dissimuler l'insuffisance de mes efforts, mais j'espère obtenir l'indulgence que je sollicite en considération des très grandes difficultés que présentait un travail complet sur une matière aussi vaste et dont l'étude entre à peine aujourd'hui dans une phase toute nouvelle.

En effet rien n'a été préparé dans notre île malheureuse pour l'étude du mal et des moyens de le supprimer. C'est à peine si quelques travaux incomplets ont été entrepris dans les premières années de la conquête. Les réclamations incessantes du corps médical de l'île, les savantes et périlleuses études du personnel des ponts et chaussées, tous ces efforts, toutes ces bonnes volontés, manifestés avec un dévouement d'autant plus rare qu'il est sans gloire et sans profit, n'ont abouti à aucune détermination sérieuse de la part des pouvoirs publics.

Récemment encore, alors que de tous les pays des missions scientifiques sont parties pour opérer des recherches dans les contrées les plus lointaines, alors que Java, Madagascar, les côtes arides de l'Afrique occidentale, ont reçu d'éminents visiteurs, la Corse à six heures du continent français, digne au moins d'un égal intérêt, n'a été l'objet d'aucune mesure secourable, d'aucune salutaire sollicitude.

Pourtant notre ennemi ne nous ménage guère. et l'on verra au cours de ce travail quelle est l'étendue de ses ravages. Condamnés à la famine ou à la mort, serons-nous obligés de nous résigner à l'une ou à l'autre de ces alternatives, ou bien, forcés de quitter notre pays, devrons-nous chercher le salut dans l'émigration définitive. Faudra-t-il enfin, qu'au vingtième siècle, renonçant au bénéfice des découvertes modernes, nous en soyons réduits à la cruelle prophylaxie que Lancisi conseillait aux habitants des régions palustres : *Fuge cito, propinquus, abi, serus que reverte* (1).

Non, nous croyons au contraire que le spectacle de nos malheurs, que nos pressantes revendications pourront bientôt avoir raison de l'indifférence funeste que l'on a apportée jusqu'ici à l'examen des choses de Corse.

Dante a dit · « *Ingegnati se puoï d'esser palese.* » Autant que tu le peux, fais-toi connaître. C'est précisément pour faire connaître notre état misérable que j'ai traité ce sujet, en souhaitant que mon modeste effort ne soit pas absolument stérile.

---

(1) Fuis au plus tôt, va-t-en vite et reviens tard.

J'ai trouvé les plus précieux renseignements au service des ponts et chaussées à Bastia et je remercie bien chaleureusement le personnel pour l'amabilité que tous ses membres ont mise à me faciliter ma tâche.

Les médecins corses, dont plusieurs ont été mes maîtres, m'ont donné les conseils les plus éclairés et les plus bienveillants. Je leur dois le meilleur de mon travail et je leur adresse l'expression de mon affectueuse gratitude.

Enfin, je dois ici rappeler le souvenir de mon oncle, le docteur Pitti-Ferrandi, sénateur de la Corse. Il décida de ma carrière, et si la mort cruelle m'a privé de ses enseignements et de son affection, du moins sa chère mémoire me sera toujours un exemple et un réconfort.

Généralités

L'agent du paludisme, son mode de pénétration dans le sang humain

L'hématozoaire. — Le paludisme a pour agent un parasite découvert par Laveran en 1880, nommé par lui hématozoaire, parasite que l'on retrouve toujours et seulement dans le sang du paludéen à condition qu'on le recherche au début des accès, et chez des sujets qui n'ont pas encore absorbé de quinine.

Mais le paludisme est une maladie d'aspect essentiellement varié et l'on peut classer ses principales manifestations au moins en deux groupes.

1° La fièvre de première invasion, dite estivo-automnale, quotidienne ou rémittente, grave.

2° Les fièvres tardives, régulières, atténuées (fièvre tierce, fièvre quarte).

Y a-t-il un seul germe pour toutes les formes du paludisme, ou bien chacune d'elles, a-t-elle un agent particulier et spécial à elle seule ?

Les unicistes affirment que le parasite est un et présente seulement des aspects divers (Laveran). Les partisans de la pluralité, au contraire. affirment avoir reconnu au moins trois espèces distinctes d'hématozoaires.

1° Le Plasmodium precox (des fièvres estivo-automnales).

2° Le Plasmodium vivax (des fièvres tierces).

3° Le Plasmodium malariæ (des fièvres quartes).

Quoiqu'il en soit, à l'examen du sang d'un paludéen observé dans les conditions que nous avons dites, on constate la présence de petits éléments, arrondis ou corps sphériques, en rosace, en croissant en petits filaments ou flagella. C'est l'hématozoaire.

Comment donne-t-il la fièvre paludéenne. Ce n'est point ici le lieu de discuter des théories bien controversées. Mais il semble prouvé qu'il ne produit pas de toxine comme les autres microbes pathogènes, et ses connexités avec le globule rouge qu'il pénètre et détruit, suffisent peut-être à expliquer son action nocive.

Mode de pénétration dans le sang. — Le germe de la maladie ayant été découvert, il restait à démontrer comment il pouvait pénétrer dans le sang pour y déterminer les phénomènes morbides.

L'eau. — Les premiers auteurs avaient déjà songer à incriminer l'eau et depuis Hippocrate, Galien, Rhazès, jusqu'à ces dernières années, on a parlé de cet agent de contamination. On publiait plusieurs observations à l'appui de cette hypothèse. Ainsi le navire « Argo » dont l'équipage fut décimé par une maladie fébrile, pour avoir bu de l'eau « de saveur repoussante, et d'odeur nauséabonde. » On citait d'autres cas très nombreux de fièvres éclatant après l'ingestion d'eau suspecte et cessant après la suppression de l'usage de cette eau. Mais toutes ces observations étaient contestées et ce que nous savons sur la contamination par l'eau dans la fièvre typhoïde, et sur la typho-palustre, éclaire singulièrement les origines de ces maladies fébriles.

En Corse, nous verrons qu'à Portovecchio, localité palustre, la population a rapidement augmenté à la suite de l'adduction d'eau potable, mais cela est dû, d'une part à la diminution de l'émigration qui était causée par l'impossibilé de se procurer en été de l'eau fraîche et pure, et d'autre part à la disparition d'épidémies redoutables de fièvre typho-palustre qui faisaient tous les ans de nombreuses victimes. On comprend alors quel a été le rôle de l'eau.

A Saint-Florent, l'adduction d'eau potable fait passer très vite la durée moyenne de la vie de 26 à 33 ans, mais en même temps, on exécutait des travaux d'assèchement d'un marais voisin du village, et de plus la typho-palustre disparaissait.

D'ailleurs, en Italie, des localités de montagne, obligées de boire l'eau des marais de plaine sont indemnes de paludisme et en plaine marécageuse, des villages approvisionnés d'eau de montagne n'en sont pas moins infestés.

Disons pour terminer qu'en dépit de toutes les recherches, on n'a pu retrouver l'hématozoaire dans l'eau et que les injections intra-veineuses d'eau marécageuse n'ont donné aucun résultat.

Nous verrons pourtant par l'importance de la fièvre typho-palustre quel est le rôle capital de l'eau dans les régions malariques et quelle utilité il y a à fournir celles-ci de sources réellement pures.

L'air. — On a pensé à incriminer l'air ; et la théorie « tellurique » prétendit que les hématozoaires se formaient dans les produits de putréfaction des matières végétales qu'aux mois de l'été le soleil dessèche et décompose. Le germe se répandait alors dans l'air et le vent était une cause active de la dissémination de la malaria.

On fut obligé de renoncer à cette théorie en particulier devant l'impossibilité de faire vivre le parasite à l'état sec (Bignami).

Les brouillards. — L'air humide chargé d'eau marécageuse, les brouillards qui s'élèvent au matin, au-dessus des régions malsaines, étaient considérés comme jouant un rôle très important, et des expériences furent entreprises pour le démontrer : Büchner soumit 16 individus pendant 70 jours à des inhalations très longues d'air chargé d'eau pulvérisée recueillie dans les marais pontins.

Il n'obtint aucun résultat.

Il fallait donc chercher un véhicule qui fit pénétrer directement le parasite dans le sang et c'est alors qu'on songea au moustique.

Les moustiques. — On savait déjà que la filariose se propageait essentiellement par les moustiques et que les filaires de l'homme subissent dans le corps de ces insectes une phase de leur évolution. On chercha donc dans cette voie et Manson, Ronald Ross, en Angleterre, Laveran, Blanchard en France, Grassi, Celli, Bignami, Bastianelli en Italie, d'autres habiles expérimentateurs sont parvenus à démontrer la réalité de l'hypothèse avancée, à appuyer les théories sur des faits vérifiés, à donner enfin la preuve que le germe du paludisme pènètre dans le sang humain par un intermédiaire capital et peut-être unique, le moustique.

D'ailleurs l'idée d'une pareille contamination était fort ancienne et sans avoir besoin de citer les auteurs (King, Laveran), c'est en Corse une notion populaire bien souvent exprimée, que celle de la coexistence du mauvais air et des moustiques et de l'influence pernicieuse de ceux-ci.

Mais il faut arriver aux travaux de Manson et de Ronald Ross, pour voir affirmer le rôle prépondérant des moustiques dans l'histoire du paludisme. Depuis une série énorme de travaux a apporté la lumière la plus complète sur ce problème qui est aujourd'hui, on peut le dire, complètement résolu.

Pourtant la tâche n'était pas simple et les difficultés paraissaient insurmontables. De graves objections furent immédiatement soulevées. Pourquoi observait-on le paludisme dans les endroits où il y a peu ou pas de moustiques et pourquoi n'en observait-on pas là où leur nombre est considérable. Ainsi au Sierra-Leone, en Afrique, on ne sait pour ainsi dire pas ce que c'est qu'un moustique et la fièvre y sévit pourtant avec intensité, et en Italie des localités où ces insectes fourmillent sont absolument indemnes.

Enfin comment expliquer les accès de paludisme observés au cours des défrichements, des travaux de terrassement, comme au moment du percement de l'avenue de l'Opéra à Paris, ou des travaux de l'Exposition de 1900.

Nous pouvons dire tout de suite quelles réponses victorieuses la théorie trouva bientôt à faire à ces objections :

D'abord Ronal Ross, dans le Sierra-Leone, même à Freetown, a trouvé une quantité considérable de moustiques appartenant à la variété silencieuse mais seule dangereuse, dans une centaine de petites mares entourant la ville, et Grassi, dans les pays italiens que l'on désignait, n'a point trouvé cette même variété, mais seulement la variété bruyante et inoffensive du cousin vulgaire.

A la troisième objection, plus sérieuse, on répondit que la terre soulevée et composée de toute sorte de détritus, est un excellent receptable pour les eaux de pluie qui s'y créent de petits bassins éminemment propres à la pullulation des moustiques malfaisants.

Etudions de près la théorie.

Il parut d'abord évident que tous les moustiques ne donnaient pas la fièvre paludéenne, et on constata vite l'innocuité du cousin, culex pipiens de Linné. Ronald Ross fixa donc son attention sur une variété particulière qui présentait comme caractères spéciaux que les insectes avaient les ailes tachetés et que leurs œufs étaient en *forme de bateau*. Après deux années de vaines recherches sur un nombre infini de culex, il trouva chez deux individus de la précédente variété, alimentés avec du sang humain contenant des hématozoaires, il trouva, dit-il, dans la paroi de l'estomac, des cellules ovales ou rondes contenant quelques granules de la mélanine caractéristique du paludisme.

Il s'agissait là du moustique Anophèles, d'un mot grec qui veut dire malfaisant. Une série de recherches fructueuses furent faites sur les oiseaux. Enfin Bignami les confirma par ses expériences sur Abel Sola qu'il fit piquer par des moustiques recueillis dans les marais pontins. Deux fois les piqûres de culex n'eurent aucun effet, mais à la troisième fois avec des anophèles le sujet fut atteint, au quatorzième jour, de tous les symptômes du paludisme.

Il n'y avait plus de doute, l'Anophèles est bien la variété dangereuse et la seule dangereuse.

Description de l'Anophèles. — Il en existe plusieurs espèces. La plus commune est l'Anopheles claviger de Grassi. Il présente à décrire, une tête, un thorax, un abdomen.

La tête porte deux yeux, à facettes, gros, deux antennes, une trompe grande comme la moitié du corps, sur laquelle on remarque une fine gouttière abritant les crochets qui doivent percer la peau de l'homme.

Le thorax, arrondi et ramassé, porte les ailes et les pattes ; les ailes ont des écailles qui, épaissies en quelques points, forment les taches que Ross a signalées. Les pattes, au nombre de trois paires, sont très longues et très fragiles.

L'abdomen, mince et allongé, est formé de 8 anneaux.

Reproduction. — Les femelles déposent leurs œufs en forme de bateau à la surface des eaux stagnantes. Deux jours après, les larves éclosent ; elles subissent des mues et grandissent rapidement. Puis du 12ᵉ au 15ᵉ jour, après avoir passé par l'état de nymphes, ces œufs sont devenns des insectes adultes qui 20 à 25 jours après peuvent opérer une nouvelle ponte de 200 œufs environ. Théoriquement, on peut établir que tous les 50 jours environ.

La 1ʳᵉ génération produira 200 œufs dont cent femelles qui pondront chacune 200 œufs ;

La 2ᵉ génération produira donc 20,000 œufs ;

La 3ᵉ génération 2,000,000 œufs ;

La 4ᵉ génération 200,000,000 œufs ;

La 5^e génération 20,000,000,000 œufs.

On comprend ainsi, dit M. Blanchard, l'excessive pullulation des moustiques dans certains pays.

La Larve. — La larve de l'Anopheles vit dans l'eau, mais elle a besoin d'air atmosphérique pour respirer. Elle flotte donc à la surface comme un petit ver, comme un fétu de paille, couchée sur l'eau. Elle se déplace rarement en glissant à reculons et lorsqu'elle est dérangée, elle plonge rapidement jusqu'au fond, puis remonte lorsque tout est tranquille, la queue en haut, en faisant des zigzags.

Elle se tient de préférence dans les eaux dormantes à végétation abondante, et les mares d'eau de pluie, ou d'eau marécageuse constituent son séjour de prédilection. Tout autre est la larve de culex qui est en mouvement incessant ; elle se tient perpendiculairement à la surface au lieu de se coucher. Elle se développe dans toute sorte d'endroits où s'est accumulée l'eau, étangs, mares, rivières. Ross en a trouvé un peu dans tous les récipients contenant de l'eau, tonneaux, gourdes. seaux de ménage, bénitiers d'église, mais il n'a trouvé d'anopheles que dans les petites mares permanentes, insuffisamment lavées par les pluies. On les voit surtout dans ces flaques larges et peu profondes qui avoisinent les étangs et les cours d'eau à bords indécis et peu relevés, ou végètent quelques plantes vertes, ce qui est tout à fait la caractéristique de la *padula* Corse.

Mœurs du moustique adulte. — Le mâle anopheles n'est pas outillé pour piquer l'homme, il se contente de sucer les herbes de son marais ou de sa flaque d'eau dormante. La femelle beaucoup mieux armée pique très volontiers les hommes et les animaux, et suce leur sang. Les moustiques ne s'éloignent guère de leur lieu de naissance et le vent ne les entraine jamais à des distances très grandes.

Leur pullulation est surtout active en été, et en Corse particulièrement, on ne les voit guère que de mai à novembre. Les hautes températures sont très favorables à leur éclosion.

Pourtant ils redoutent le grand soleil, et si la chaleur leur est nécessaire pour naître et vivre, ils aiment pendant le jour, se cacher dans les buissons frais, les arbres, les grottes ; ils se reposent alors sur les murs, les pierres, le feuillage dans une attitude caractéristique qu'il est important de connaître. Tandis que le culex reste avec le corps parallèle au mur auquel il s'accroche, l'Anopheles dans une direction perpendiculaire à ce mur, semble vouloir y piquer sa tête. Ce fait, rapproché de l'attitude des larves, donne une excellente indication pour différencier à l'œil nu l'Anophèles et le Culex.

Ajoutons, d'après les recherches des Américains (Howard), que la note donnée par le sifflement de l'Anophèles est de 4 tons plus basse que la note du Culex.

Evolution de l'hématozoaire. — Le véhicule étant connu, voyons comment se produit l'infection de l'homme.

Quant un moustique Anophèles infecté par le parasite vient piquer un homme sain, il déverse dans la plaie par son aiguillon, une gouttelette de salive dans laquelle nagent des animalcules en forme de ver ou *sporozoïtes.* Ceux-ci, à travers les veines, pénètrent dans le sang et vont prendre des formes très variées. Ils se ramassent d'abord en « corps arrondis », s'accolent aux globules rouges et pénètrent à leur intérieur. Puis formant des « rosaces » autour d'un point central noir, ils se divisent en plusieurs segments ou mérozoïtes et font éclater le globule sanguin ; les fragments libres dans le sang abandonnent le noyau noir autour duquel ils formaient la rosace, et celui-ci sous le nom de « mélanine » va s'accumuler dans la rate en la colorant.

Les mérozoïtes s'arrondissent à leur tour, puis se segmentent encore en rosaces et donnent ainsi lieu à un nombre indéterminé de générations successives, asexuées, auxquelles on a donné le nom de « schizogonie ». Quand ils sont épuisés par une série considérable de générations, les mérozoïtes se transforment en éléments particuliers en forme de croissants ou de filaments (flagella) qu'on rencontre souvent en très grand nombre dans le sang des vieux paludéens ou des cachectiques.

Le moustique vient alors piquer le malade et se gorge de ce sang chargé de croissants et de flagella. Ceux-ci penètrent dans son estomac et prennent eux aussi la forme sphérique. Mais tandis que la moitié d'entr'eux ne subit aucune modification, l'autre moitié pousse à sa surface des petits prolongements qui se détachent et vont pénétrer en les fécondant, les corps restés sphériques ou « macrogamètes ». Les petits prolongements sont appelés « microgamètes », et les corpuscules qui les supportent « microgamétocytes ». Le macrogamète fécondé constitue un « zygote » qui après s'être enkysté dans la paroi de l'estomac du moustique, va donner naissance à ces éléments en forme de ver ou sporozoïte, que l'anopheles déposera directement avec sa salive, dans le sang humain pour produire la fièvre.

Ainsi s'achève par une génération sexuée, ou « sporogonie » l'évolution de l'hématozoaire qui passe de l'homme au moustique et de celui-ci au premier, sans jamais cesser d'être parasite et sans jamais vivre à l'état de liberté.

⁂

Aperçu géographique sur les régions palustres de la Corse

La Corse placée sur la carte entre les 41° 21' et 43° de latitude nord et 6° 4' et 7° 13' de longitude. Est, est une île de 200 kilomètres de long sur une largeur maxima de 90 kilomètres. Sa superficie est de 874.741 hectares. Traversée du nord au sud par une chaîne de montagnes élevées, on n'y constate qu'une seule plaine véritable, qui s'étend de Bastia à Porto-Vecchio; c'est la « plaine orientale » qui présente sa plus grande largeur en un point médian, Aleria. Sur la côte ouest, beaucoup plus accidentée, on ne trouve de terrains plats qu'à l'embouchure des cours d'eau et au fond des plus importantes vallées.

Ces plaines sont les seules parties vraiment cultivables de l'Ile, mais ce sont aussi les seules qui soient infectées par la malaria. La plaine orientale va nous occuper plus particulièrement et d'ailleurs, ce que nous dirons d'elle peut s'appliquer aux autres régions palustres de l'île.

Régions palustres. — A la base du cap Corse se trouve Bastia qui regardant la mer à l'est, est séparée à l'ouest du golfe de Saint-Florent par une haute montagne et au sud de la plaine orientale par une colline sur les dernières croupes de laquelle est bâti le faubourg insalubre de Saint-Joseph. De ce faubourg on a la vue sur une région très vaste qui se profile au loin entre la mer d'une part et la chaîne centrale d'autre part, jusqu'à Bonifacio, sur une longueur de 150 kilomètres et une largeur variant entre 6 et 20 kilomètres.

Cette plaine, sillonnée par endroits de petites ondulations, limitant entre elles les lits des nombreux torrents qui descendent de la montagne, est extrêmement fertile. Les jardins maraîchers, les vignes, les céréales, les orangers, les oliviers, les cédratiers, les palmiers y viennent avec la plus grande facilité. Le climat est très chaud, comparable à celui de la Sicile ou du nord de l'Algérie.

Géologie. — Au point de vue géologique, les terrains appartiennent de Bastia à Alistro à l'époque quaternaire ; galets, argiles ; sables au bord de la mer et dépôts d'alluvions au fond des vallées. D'Alistro à Urbino, terrains tertiaires, marne, grès grossiers, d'Urbino au Travo, de nouveaux terrains quaternaires et du Travo à Bonifacio, terrains granitiques, sauf en deux points Favona et Solenzara, qui dépendent du système éocène.

Mais quelle que soit la nature des terrains, le sous-sol, argiles ou marnes, est toujours constitué par une couche imperméable qui favorise la stagnation des eaux de pluie ou d'inondation. Une autre zône imperméable est formée par le tassement de racines et autres débris végétaux, dont le feutrage oppose un obstacle infranchissable à là filtration des eaux. Cet humus, très hygroscopique, reconnaissable dans les tranchées du chemin de fer à sa coloration noire, se charge d'humidité et sous l'influence des grands soleils d'été, donne naissance à ces épais brouillards du matin, auxquels les paysans attribuent une si funeste influence.

Les Marais. — Favorisés par les pluies, les divagations de torrents irréguliers et impétueux, le voisinage de la mer, les caractères du sol et de la côte, les marécages se sont formés en grand nombre et couvrent environ 10.000 hectares de leurs eaux stagnantes, infectant à peu près la totalité des plaines.

Ces marais forment sur la côte orientale un long chapelet séparé de la mer par une mince bordure de sables, surmontée de dunes. Cette bordure est interrompue en de nombreux endroits par des « foci », estuaires, embouchures de cours d'eau ou d'étangs, dont le régime est fort important dans la formation des marais. Les sécheresses, en été, réduisant les torrents à un débit insignifiant, sous l'influence des vents du large, qui sont en Corse plus forts que les vents de terre, il s'établit au niveau des foci, des barres de sable. Celles-ci interceptent l'écoulement des eaux fluviàles qui se répandent alors dans les terres environnantes.

Pendant l'hiver au contraire, les torrents grossissent subitement et emportent la barre ainsi formée. La mer entre alors dans les foci et les remplit.

Enfin les marais en bordure sur la mer sont alimentés par les vagues que la tempête jette par dessus les dunes, ou bien comme dans l'étang del Sale, en vertu du principe des vases communicants, les infiltrations marines, gagnent à travers les sables du littoral les bassins voisins et les alimentent sans cesse.

On voit donc la nécessité de diviser les marais en :

1° Marais salins, en communication permanente avec la mer ;

2° Marais d'eau douce, alimentés seulement par les torrents ;

3° Marais mixtes ou saumâtres.

On attachait auparavant la plus grande importance à ces divisions, et l'on attribuait aux marais d'eau douce et surtout aux marais saumâtres, une noscivité plus grande qu'aux marais salins. Cette notion, qui avait provoqué des idées inexactes sur les conditions de développement du germe, était cependant très juste et s'appuyait sur l'observation.

En effet, les marais salins garantis par leur salure et l'égalité de leur niveau, n'ont eux-mêmes aucune autre fâcheuse action que celle de faciliter sur leurs bords généralement indécis et peu abrupts, la formation de bassins aptes à recueillir les eaux de pluie, et où vont naître facilement les anopheles. L'eau salée est en effet un milieu défavorable à l'éclosion des moustiques. D'ailleurs sur la côte orientale les marais salins proprement dits sont assez rares. Les principaux sont l'étang del Sale, et certains marais avoisinant Porto-Vecchio.

Les marais d'eau douce longent le plus souvent les bords des torrents dans la profondeur des vallées, de telle sorte que parmi celles-ci, quelques-unes ont une aussi fâcheuse renommée d'insalubrité que les marais de la côte (Golo, Tavignano, Fiurmobo, Leamone, etc.)

Mais les plus etendus sont les marais saumâtres, qui couvrent plus de 6.000 hectares, et les principaux sont les étangs de Biguglia, Diana, Urbino, avec leurs dépendances.

Ces étangs alimentés pendant la saison chaude par les eaux fluviales exclusivement, et en hiver, après la disparition de la barre, aussi par l'eau de mer, n'ont pas un degré de salure suffisant pour s'opposer à la production des moustiques. Pour l'étang de Biguglia près de Bastia, le service des Ponts et Chaussées a établi que la salure varie entre 1,2 et 2 pour 100, alors qu'en Méditerranée les chiffres doublent. Mais ces étangs sont profonds et poissonneux, conditions défavorables au développement des anophèles. Malheureusement leurs bords sont peu relevés et présentent sur de grandes étendues des quantités innombrables de ces petites flaques saumâtres, a végétation active, et dont l'eau croupissante est un milieu de prédilection pour les insectes malfaisants.

Population. Race. — La Corse est peuplée de 260.000 habitants, sur les quels si l'on excepte Bastia et Ajaccio, 5 à 6,000 à peine habitent le littoral.

La Race primitive rattachée par Mérimée à une origine celto-ligure est fixée depuis 3 à 400 ans par l'apport considérable d'éléments arabes, sarrazins, espagnols et italiens.

* * *

Historique

La Corse a-t-elle toujours été désolée par le paludisme ?

Il semble tout d'abord que le mal n'a jamais été aussi grave et aussi général qu'au siècle passé. Aux temps les plus reculés, l'histoire des Corses se perd dans l'obscurité, et c'est à peine si l'on a des données vraisemblables sur les évènements de l'ère romaine. Il est pourtant certain que le littoral, aujourd'hui à peu près inhabité sauf en 6 ou 7 agglomérations, heureusement placées, était au moment de l'occupation romaine peuplé par la majorité des habitants de l'île. Les Phocéens y fondèrent au milieu d'une vaste plaine aujourd'hui presque déserte, une ville, Aleria, qui, détruite par les Carthaginois, puis par Scipion, fut reconstruite par Sylla. Sa population était dit-on de 100,000 âmes et les ruines qu'on en a découvertes attestent une prospérité considérable.

Dans la plaine de Marana près de Bastia, la ville de Mariana fut fondée par Marius vers l'an de Rome 653 et il en subsiste aussi des ruines importantes. D'autres villes considérables florissaient sur le littoral et la plaine orientale était renommée pour sa fertilité et sa culture. On ne trouve contre ceci que les doléances de Senèque qui trouvait la Corse où il était exilé, trop éloignée de Rome et de l'empereur, et les Corses mal accoutumés à la servilité et à la corruption.

Mais plus tard les incursions sarrazines, les troubles de la période carlovingienne, les guerres que les Corses soutenaient déjà contre leurs oppresseurs, détruisirent cette prospérité et il est à peu près établi que les villes d'Aleria et de Mariana disparurent vers l'an 880 de notre ère.

Cependant la plaine ne fut pas abandonnée et j'emprunte ici à mon savant maître M. Letteron, professeur au lycée de Bastia, la discussion de l'existence de la Malaria depuis cette époque jusqu'à son apparition certaine en 1499.

« En 1252, dit M. Letteron, l'évêque d'Aleria faisait tous ses efforts pour repeupler cette ville où il résidait lui-même parce que la population trop faible ne pouvait résister aux attaques des pirates et des seigneurs voisins. Si la Malaria avait existé alors de ce côté, comme aujourd'hui, l'évêque n'aurait assurément pas eu la pensée d'inviter les Toscans à venir s'établir dans sa ville épiscopale. Il eut plutôt émigré lui-même comme on le fit plus tard.

« On peut en dire autant de Mariana. Ni cette plaine ni les villages voisins n'étaient alors désolés par la fiévre, autrement peut-on croire que les Gouverneurs de la Corse eussent établi et maintenu pendant de longues années leur résidence à Biguglia ? Que Vincentello d'Istria qui possédait tant d'autres châteaux s'y fut fixé lui-même..... Filippini a dit que si Biguglia avait de son temps perdu toute son importance, si le couvent des frères mineurs, autrefois si florissant, était à peu près abandonné, on ne devait s'en prendre qu'aux fièvres qui décimaient alors le pays, « che prima non avea nome di tanto infesto e pestifero sito ».

« Mais voici un témoignage plus précis. L'an 1499, dans une requête adressée à l'office de Saint-George, les habitants de Biguglia s'expriment ainsi : « Quinto, perche anticamente, il fiume di Golo, entrava nel stagno di Biguglia, e a quel tempo, l'aria non era pestilente, di leggiero, si potria esso fiume, ridurre a tal camino ; Pregano W. SS. che prendino cura d'inviar il detto fiume, al detto stagno (1) ». Ce texte est clair. S'il est invraisemblable que la malaria existât au temps de Vincentello, avant 1434, si la première indication authentique que l'on rencontre à ce sujet est de l'année 1499, il faut en conclure que c'est pendant la seconde moitié du xvᵉ siècle que la plaine de Mariana a commencé à être infestée ainsi que les villages voisins. »

---

(1) Auparavant, lorsque le Golo entrait dans l'étang de Biguglia, l'air n'était pas pestilentiel ; et comme on pourrait facilement faire reprendre son ancien lit au fleuve, nous prions VV. SS. de faire en sorte que le Golo retourne encore à l'étang.

D'ailleurs, Pietro Cirneo, chroniqueur intelligent et fidèle, qui écrivait en 1506 parle, à peine à quelques reprises de la fièvre, qui, si elle eut eu la funeste importance d'aujourd'hui, aurait autrement attiré son attention. Il dit que la population s'élevait à 500,000 âmes et Filippini après lui ne cite que des foyers isolés et ne parle pas du paludisme comme d'un fléau étendu à toute l'île.

Cependant le mal prenait à mesure de l'extension et depuis le xviiᵉ siècle tous les gouvernements en Corse ont songé à le combattre. Le génois Spinola ordonnait des plantations d'arbres. Théodore rend des décrets en ce sens.

Mais les Corses combattant pour leur liberté, excédés par les cruautés des Génois, cultivaient de moins en moins les terres fertiles de la plaine et se réfugiaient dans les montagnes inaccessibles. Et lorsque Paoli tentait ses glorieuses entreprises pour assurer à son pays l'indépendance et la tranquillité, la malaria accentuait ses ravages pour ne plus cesser depuis, de s'accroître.

En 1799, le conventionnel Barrère, dans un discours sur l'état de la Corse, déplore les malheurs de ses habitants et l'incurie de la mère-patrie. Blanqui, au xixᵉ siècle, déclare dans un rapport à l'Académie des sciences, que la question de l'assainissement est une question de vie ou de mort pour notre île.

Nous verrons plus loin quel est aujourd'hui notre état misérable.

* * *

Le Paludisme en Corse

Particularités

Les Moustiques. — Ils fourmillent en Corse. Dans les régions palustres, ils sont en si grand nombre qu'ils empêchent les cultivateurs de dormir et leurs piqûres incessantes sont très souvent un véritable supplice.

On les rencontre à toutes les altitudes. Nous les avons trouvés en plaine,à mi côte,dans les montagnes même ou l'on a observé des cas de flèvres palustres qui semblaient auparavant inexplicables. Les paysans qui les connaissent et les redoutent ont vu leurs nymphes dans les eaux stagnantes sous forme de minuscules grumeaux blanchâtres ; ils en distinguent deux espèces, les petits insupportables par leurs piqures et leur sifflement, qu'ils nomment *zarapicchi*, et de plus grands moins offensifs et peut-être moins stridents, les *zanzale*, de l'italien Zanzara.

Je n'ai pas fait en Corse de recherches à ce sujet, n'ayant pas, au moment où j'y étais, de connaissances particulières sur la question. Mais un entomologiste distingué M. Ferton, capitaine à Bonifacio a communiqué à M. Laveran le résultat de ses recherches au cours d'une endémie palustre qui a sévi avec la dernière intensité sur la garnison de Bonifacio, pendant l'année 1900.

On avait imprudemment bâti un casernement en plein marécage, et on y avait logé deux bataillons d'infanterie ; les hommes ont été tellement éprouvés par la maladie, qu'on a été obligé d'évacuer le casernement qui se vidait tous les jours par les envois incessants à l'hôpital, en convalescence, ou au cimetière.

Voici ce que dit M. Laveran sur les envois de M. Ferton :

« La ville de Bonifacio est salubre, mais à proximité se trouve un grand nombre de localités dans lesquelles l'endémie palustre sévit avec force. Le camp de Monte-Leone et la batterie de Bocca-di-Valle sont de ce nombre.

« Les moustiques recueillis à Bonifacio étaient tous des culex ; au contraire, dans les échantillons recueillis au mois de septembre au camp et à la batterie, les Anopheles étaient nombreux, il s'agissait dans tous les cas de femelles d'Anopheles claviger gorgées de sang. La récolte des moustiques ayant été faite dans les corps de garde, on s'explique facilement ce résultat : les mâles qui ne sucent pas le sang pénètrent rarement dans les habitations, d'autre part les femelles gorgées de sang se laissent prendre facilement.

« Au commencement d'octobre, les Anopheles claviger ont été encore trouvés en grand nombre au camp et à la batterie. A la fin de ce mois ils sont devenus rares, on ne trouvait plus que des culex. C'est aussi à cette époque que l'on voit disparaître les fièvres de première invasion. »

M. André à Ajaccio n'a trouvé que des culex, dans les marais fébrigènes de Campo-di-Loro. Mais il sera facile de faire de nouvelles recherches et des récoltes fructueuses en se conformant aux prescriptions de l'Instruction de M. Blanchard. (Bulletin de l'Académie de Médecine. Rapport au nom de la Commission du Paludisme, 13 juillet 1900).

La Maladie. — En Italie où les conditions cosmiques sont, à peu près, celles de ce pays, les médecins divisent, l'année au point de vue qui nous occupe, en deux périodes :

1° Une période épidémique qui s'étend de juillet à décembre, c'est alors que se produit la fièvre de première invasion dite estivo automnale, rémittente, grave ;

2° Une période endémique, de janvier à juin au cours de laquelle le paludisme ne fait pas de nouvelles victimes, mais continue à se manifester chez les individus primitivement atteints. On n'observe alors que les formes attenuées, régulières.

En Corse il y a une légère différence dans la limite des périodes, l'endémique s'étend de fin novembre à mai, et l'épidémique de juin à novembre avec un maximum d'intensité pour les mois de septembre et d'octobre. Une statistique assez ancienne dressée par un médecin militaire à Calvi donne une idée assez exacte de la progression du paludisme pendant la saison dangereuse :

Le 15 juillet il y a 3 paludéens en traitement à l'Infirmerie ;

Le 15 août, 21 ;

Le 31 août, 32 ;

Le 19 septembre, 59 ;

Puis les chiffres décroissent et au premier décembre il n'y a plus de malades.

Les laboureurs, les vignerons, les muletiers, les chasseurs, les employés de chemin de fer, en somme les cultivateurs ou toutes les personnes obligées de vivre à la plaine, sont naturellement plus atteints que les montagnards.

Les enfants sont plus sensibles que les adultes et plus sujets aux formes graves. Le sexe n'a point d'influence.

La race n'en a guère non plus et l'acclimatation ne semble pas se produire. Les registres des infirmeries militaires que j'ai consultés à Ajaccio, à Corte, à Bastia ne donnent aucun avantage numérique au contingent corse pas plus qu'au contingent continental, pour les fièvres de première invasion. On trouve seulement pour le premier plus de fièvres tardives provenant d'une infection ancienne.

Les formes de la maladie sont assez exactement celles décrites par les Italiens dans les marais pontins. D'abord la fièvre estivo-automale revêt en Corse un aspect à peu près uniforme. C'est toujours au début le type gastro-bilieux, vomissements, agitation extrême. maux de tête violents, teinte jaunâtre de la peau, température entre 39° et 40°.

Les accidents pernicieux sont fréquents. On observe tous les types mais le comateux algide prédomine. On n'en voit guère qu'à la période épidemique, et dans l'immense majorité des cas, ils sont précédés par des accès intermittents simples. Ils surviennent très rarement d'emblée.

Les fièvres tardives de l'hiver et du printemps sont très communes et particulièrement tenaces. Les fièvres quartes sont les plus nombreuses, mais on voit tous les types, tierces. combinés, irréguliers. L'anémie est la suite infaillible de tous ces accidents et la cachexie palustre est fréquente surtout chez les enfants. Les formes larvées sont loin d'être rares.

Les paludéens anémiés ne résistent guère aux microbes pathogènes. Les suppurations et les gangrènes, les maladies infectieuses, les éprouvent incessamment. La pneumonie, la diphtérie. la rougeole, la scarlatine, la variole sont en Corse à l'état endémique. Mais c'est avec la fièvre typhoïde que le paludisme s'associe le plus volontiers et les cas de fièvre typho-palustre ont une fréquence désastreuse. Il n'y a pas de localité, ou cette maladie ne fasse de nombreuses victimes, et elle redouble de gravité aux mois d'automme.

Il est facile d'en montrer la cause. Les principes élémentaires de l'hygiène étant inconnus dans notre pays, les linges souillés sont lavés à la montagne dans les torrents, près des villages. Ces torrents après un cours rapide et peu étendu, descendent en plaine ou ils servent presque exclusivement à la consommation des cultivateurs. On pense bien que les microbes les plus dangereux fourmillent dans une eau pareille.

A Porto-Vecchio, l'épidémie survenait tous les ans au mois d'octobre et on verra qu'elle était cruelle par ce fait que la ville, ayant été approvisionnée d'eau pure, la typho-palustre disparut et la population en 5 ans passa de 2.825 au chiffre de 3.015 habitants.

A Saint-Florent, dans la vallée du Nebbio, l'adduction d'eau potable a fait disparaître l'infection et la durée moyenne de la vie est passée de 26 à 33 ans en peu de temps (1).

Nous trouvons dans ces faits des indications précises de la nécessité qu'il y a d'approvisionner les régions palustres d'eau vraiment pure. Car si l'eau n'est pas le véhicule de l'hematozoaire, elle est certainement le grand facteur de ces redoutables épidémies.

---

(1) Le docteur Feydel a analysé l'eau que boivent en plaine les habitants du Nebbio. Il y a trouvé du coli-bacille en quantité. La typho-palustre sévit dans tout le Nebbio avec intensité.

Traitement. — Il est tellement étudié et connu qu'il serait superflu d'en faire ici l'objet d'un chapitre spécial. Voici pourtant un court aperçu de la manière dont on l'a pratiqué et dont on le pratique encore en Corse, en dehors des médecins.

Ses habitants depuis un temps immémorial ont fait usage pour se guérir de la malaria, de toute sortes d'herbes et de racines. L'absinthe, la petite centaurée, la rhubarbe, la gentiane sont encore employées sous forme de décoctés ou de vins. Le poivre, les bains sulfureux, la poudre de chasse, une infinité d'autres produits ont joui et jouissent de réputations diverses comme fébrifuges.

La quinine n'a été employée que vers 1835, encore l'a-t-on fait avec une extrême prudence puisque les paysans, encore aujourd'hui, prennent mal volontiers 1 gram. de quinine à la fois et ne se soumettent aux hautes doses que sous la menace d'accidents pernicieux. Et puis, on avait signalé une infinité de contr'indications qui n'ont aucune raison d'être, mais qui ont créé autant de critiques et de répugnances à l'endroit du médicament.

Cependant on commence aujourd'hui à se soumettre aux nécessités du traitement. Un grave écueil reste à supprimer. C'est la cherté du produit en Corse. Dans nos villages, si pauvres, on demande facilement 20 sous d'un gramme de sulfate de quinine. Or, comme la fièvre frappe le plus durement les cultivateurs misérables qui fréquentent la plaine, on conçoit que les résistances à une médication active sont parfois insurmontables, et le rôle du médecin devient alors singulièrement restreint.

Ce qui rend plus importantes encore ces considérations d'ordre économique, c'est la ténacité des fièvres palustres. Souvent les malades, découragés par de longs mois de *freddi* infructueusement traités abandonnent l'emploi onéreux de la quinine, déclarent que leur organisme accoutumé au médicament ne saurait en ressentir désormais aucun effet salutaire et ont alors recours aux pratiques moins coûteuses de l'empirisme le plus extravagant.

Or cette accoutumance n'existe pas (Treille), et il faut au contraire, nous le verrons, prolonger l'usage de la quinine longtemps après la guérison.

Mais il y a des cas rebelles qui malgré les doses les plus fortes et les mieux administrées ne subissent aucune amélioration. Pour ces cas, on a donné en Corse l'arsenic et le quinquina avec les meilleurs résultats. On a ainsi créé sur place un grand nombre de spécialités pharmaceutiques qui ont l'avantage de régulariser et de soutenir l'emploi du médicament.

Sur la quinine prise à titre préventif, il n'y a pas de données très précises, mais tout le monde est d'accord pour en reconnaître les bons effets. On conseillera utilement aux personnes qui doivent séjourner dans les pays malsains des doses de 30 à 50 centigrammes à prendre tous les 2 jours. Le quinquina rendra les mêmes services.

Pour compléter ce chapitre faisons remarquer que les eaux ferrugineuses gazeuses, abondent dans les vallées limitrophes des régions palustres Corses. Elles sont d'une utilité précieuse dans le traitement de l'anémie qui suit infailliblement l'infection paludéenne (Orezza, Pardina).

Les Ravages du paludisme en Corse

« Il empoisonne, disait dernièrement une personne autorisée, des milliers d'existence chaque année ». Et l'on peut préciser avec des chiffres significatifs.

La population de l'île qui était, il y trois cents ans, de plus de 500,000 âmes, atteint à peine aujourd'hui le chiffre de 260,000 et décroît tous les jours.

A Pietra-di Verde mon village natal, localité salubre située en montagne à 15 kilomètres de la plaine, mais habitée par une population obligée d'aller chercher sa substance dans les régions palustres, à Pietra-di-Verde sur 780 habitants, près de 700 ont été ou sont frappés. Il en est à peu près de même dans tous les cantons qui longent la côte orientale et les marais occidentaux. Il y a en Corse plus de 100 villages, dont tous les habitants sans exception présentent cette pâleur terreuse, ce facies bouffi qui contrastent singulièrement avec les visages colorés et l'aspect florissant des montagnards du centre de l'île.

Soumis à une pareille épreuve les hommes les plus décidés au travail ne descendent plus à la plaine qu'avec répugnance. Lassés. épuisés par le mal, les cultivateurs qu'on accuse injustement de paresse n'y sèment et n'y récoltent plus que ce qui est strictement nécessaire à leur vie misérable de tous les jours.

Ainsi Carlotti assure que le paludisme, en Corse prive la terre de plus de 800,000 journées de travail par an, et l'on voit sans peine quelles funestes conséquences pour la prospérité matérielle du pays, entraîne l'abandon des plus fertiles régions de l'île.

Sur la ligne de chemin de fer qui traverse les contrées malsaines, on est obligé de renouveler le personnel des gares à peu près tous les trois mois, pendant la saison chaude, et le plus souvent après ce temps les employés à bout de force et de santé sont assez gravement atteints pour nécessiter leur envoi en congé, ou du moins leur affectation à la ligne de montagne.

« Aleria, dit Merimée, en parlant d'une ville autrefois florissante, n'est plus qu'un amas de ruines autour desquelles se sont groupées quelques maisons. Aussitôt après la moisson, le village devient désert et la fièvre attend immanquablement quiconque s'aviserait d'y passer la nuit. Lorsque je visitai Aleria, je n'y trouvai qu'un vieillard souffreteux que les propriétaires paient pour garder leur blé renfermé dans les maisons. Le fort et même le poste des douaniers étaient abandonnés.

« Pourtant la terre est très fertile et l'on peut juger de la bonté du sol à la hauteur et à la vigueur du maquis qui couvre tous les endroits ou la charrue n'a point passé depuis peu. »

Depuis Mérimée, les choses n'ont pas changé, et je ne connais rien de plus attristant que le spectacle de ces plaines si fertiles et si désolées, dont les fruits qu'on y recueille, a dit Gaudin, « sont toujours mêlés à des semences de maladie ou de mort. »

Voici d'ailleurs des chiffres aussi éloquents que toutes les descriptions et je souhaiterais qu'ils inspirent de salutaires réflexions et de définitives résolutions à ceux qui ont la charge de nos intérêts. Ils concernent la durée moyenne de la vie dans quelques localités Corses, les unes proprement palustres, d'autres salubres, mais habitées par des paludéens, enfin dans des villages absolument indemnes.

Au lieu de 35 ans la durée moyenne de la vie est à .

1° Aleria localité palustre, de 23 ans 6 mois ;

Saint-Florent, 26 et depuis les travaux 33 ;

Porto-Vecchio, 29 ans ;

Biguglia, 22 ans 8 mois ;

2° Vescovato, localité salubre habitée par des paludéens, 27 ans 2 mois ;

Cervione, 31 ans 1 mois ;

Corte, 31 ans 4 mois ;

Bastia, localité salubre, sauf le quartier de Toga et le faubourg de Saint-Joseph, 30 ans 3 mois ;

3° Piedicroce, localité indemne, 41 ans 6 mois ;

Campana, 39 ans 4 mois.

Pour terminer d'aussi lamentables constatations il faudrait citer les nombreux auteurs qui accusent le paludisme d'être une cause importante de stérilité et d'avortements.

Tout ceci se passe de commentaires et démontre la nécessité d'entreprendre sans tarder les travaux d'assainissement.

* * *

L'assainissement

Cette grave question a de tout temps beaucoup préoccupé les Corses et très peu les pouvoirs centraux. Les ingénieurs fort distingués qui ont dirigé les travaux hydrauliques en Corse ont accumulé recherches et rapports, les Conseils généraux tous les ans formulent platoniquement des vœux tendant à l'assainissement des territoires malsains. Mais ces recherches, ces rapports et ces vœux ont été rarement suivis de travaux efficaces,

Cependant quelques essais ont été tentés. Il convient de les classer en trois catégories.

1° Travaux exécutés dans les premières années de l'occupation ;

2° Travaux exécutés sous le second Empire ;

3° Travaux récents.

Les premiers ont été localisés à la région comprise entre Bastia et le Golo. Ils consistent en travaux d'assèchement de marais situés autour de l'étang de Biguglia, et surtout dans l'établissement d'un canal de dérivation de 4 kilomètres de long entre le Golo et cet étang.

Ce canal abandonné depuis le commencement du siècle a été curé et désormais entretenu dans ces dernières années par les soins des Ponts et Chaussés. Il rend de grands services.

2° Le second Empire a fait un fossé de drainage analogue dans les plaines de Tavagna et de Casinca. Il est aujourd'hui en assez mauvais état. On avait aussi créé à Aleria un vaste établissement agricole très bien entendu, le pénitencier de Casabianda, qui commençait à donner d'excellents résultats bien qu'on fut obligé de l'évacuer aux mois d'été à cause de la mortalité trop grande de ses habitants. Mais des raisons d'économie l'ont fait supprimer. Il est maintenant à peu près abandonné et n'est plus guère habité aujourd'hui que par un régisseur malade et des cultivateurs à la journée.

5° De nos jours les travaux d'assainissement ont fait le sujet d'études fort bien faites par les ingénieurs des Ponts et en particulier MM. Bourguougnon, Delpit et Lefèbure avec la collaboration savante et dévouée de MM. Agostini, Puccinelli, Sorba, Aimo et tant d'autres. Ces études étaient fort dangereuses puisque aucun de ces messieurs n'a échappé au paludisme et que presque tous ont à leur compte un ou plusieurs accès pernicieux : mais elles ont amené quelques heureux résultats, (travaux nouveaux de desséchement, réfection et mise en état des travaux anciens). Le principal certes est l'adduction d'eau potable à la plaine, qui s'effectue quoique lentement dans trois ou quatre des points les plus importants. Nous y reviendrons plus loin.

Avec les nouvelles découvertes, la technique des travaux d'assainissement nous paraît devoir subir de sérieuses modifications ; il faut examiner sur quelles données et dans quelles conditions on doit désormais les entreprendre.

L'infection, avons-nous dit, est réalisée selon un schéma bien simple :

Un parasite agent de la maladie est absorbé avec le sang d'un malade par un moustique particulier, né dans les eaux stagnantes, qui l'inocule ensuite à l'homme sain.

L'assainissement comporte donc la réalisation de 4 ordres de mesures prophylactiques.

1° Isoler et assainir l'homme infecté ;

2° Protéger l'homme sain des piqûres de moustique ;

5° Détruire les moustiques ;

4° Supprimer les conditions favorables à leur développement, c'est-à-dire les eaux stagnantes.

1° Le malade atteint de fièvres paludéennes, même lorsqu'il est guéri, est un danger pour les personnes saines. Son sang est un milieu ou pullulent les germes que va y puiser à la première piqûre l'anophèle pour l'inoculer ensuite à l'homme sain. Il faut par conséquent tuer d'abord ces germes.

La médecine pour cela, posséde un merveilleux agent c'est la quinine. Il ne faudra donc plus se contenter de couper la fièvre ; il faudra, après la disparition des accès, prolonger le traitement quinique au moins pendant deux mois.

Le lit des malades sera garni de moustiquaires, enfin dès qu'on le pourra on enverra dans les régions salubres les fiévreux qui éviteront ainsi une rechute ou une infection plus graves, et cesseront de contaminer les anophèles.

2° Le deuxième point est plus difficile à réaliser. Mais si l'on veut bien se conformer à des lois d'hygiène fort simples on obtiendra assez vite d'excellents résultats.

Les indications sont tirées des mœurs des anophèles. Ceux-ci ne sortent de leur retraite que le soir au crépuscule, pendant la nuit, et ils y retournent après le lever du jour. Il faudra donc d'abord éviter de sortir dans la soirée et de coucher en plein air, même pendant le jour sous les feuillages. On n'ira au travail le matin que lorsque le soleil sera assez haut sur l'horizon, et le soir, avant son coucher, tout le monde devra être rentré au logis. Là, on fermera aussitôt les fenêtres, on n'habitera pas autant que possible les rez-de-chaussée et surtout les caves, car les moustiques ont une prédilection pour les endroits humides et frais.

Il est de toute nécessité de coucher avec la moustiquaire pendant la nuit comme pendant la sieste. Voici ce que dit à ce sujet M. Laveran dans son rapport à l'Académie.

« Les moustiquaires devraient être règlementaires pour les soldats, les marins et les douaniers qui habitent des postes insalubres.

« Elles seront installées et entretenues avec soin. On ne doit pas les suspendre à un anneau, il faut les fixer sur un cadre. La partie supérieure de la moustiquaire doit être en tulle comme le reste afin de ne pas gêner la circulation de l'air.

« Il est nécessaire que le bord inférieur de la moustiquaire tombe assez bas pour qu'il soit facile de le rentrer sous le matelas quand on s'est introduit sous la moustiquaire.

« Il est indispensable de s'assurer souvent que la moustiquaire est en bon état et de tuer les moustiques qui ont réussi à y pénétrer. »

L'habitation a une grande importance. Elle doit avoir autant que possible un étage élevé sur le rez-de-chaussée et réservé au logement. Il est certain qu'on avait deviné en Corse les désavantages des maisons situées dans les creux humides et peu aérés, et dans les régions palustres on voit toutes les maisonnettes perchées autant que possible sur les monticules que le vent bat continuellement et d'où il chasse les moustiques.

Il ne faut pas qu'autour du logis on trouve des mares, des fossés d'eau croupissante où les anophèles pullulent. Il faut au contraire assurer l'écoulement parfait des eaux de pluie et même des eaux ménagères.

Enfin et ceci est une mesure extrêmement utile et pratique, il faut garnir toutes les fenêtres de treillis en fer suffisamment serrés pour empêcher les moustiques de pénétrer dans les habitations. Laveran recommande des chassis permanents recouverts d'un tissu transparent à mailles fines.

Grassi et Manson ont obtenu dans les Marais Pontins, avec de pareils dispositifs des résultats merveilleux. La dépense ne sera pas forte et leur emploi me paraît devoir être, avant toute chose, recommandé.

On a conseiller d'oindre le corps avec des pommades à la naphtaline ou au camphre, mais c'est un moyen peu pratique, on le conçoit bien.

Il peut être utile d'allumer près des maisons des fanaux ou de grands feux qui attireront les moustiques. Je dirai un mot des vètements qui doivent être en laine et assez épais. Celli en Sicile a fait adopter aux employés de chemins de fer, pour leur service, un capuchon et des manchons en tulle assez analogues à ceux que revêtent les récolteurs de miel. Je signale cette pratique à la Compagnie des chemins de fer corses, dont le personnel est si cruellement éprouvé.

Je complèterai ce chapitre en donnant quelques indications au sujet du régime alimentaire que doivent suivre les habitants de nos régions palustres

D'abord en ce qui concerne l'eau, je sais bien qu'on fait en ce moment des travaux pour l'adduction en plaine des bonnes sources de la montagne. Ceci est parfait. Mais toutes les localités sur une étendue de 130 kilomètres ne seront assurément pas approvisionnées par 4 ou 5 prises. Il faudra donc, par exemple faire des provisions d'eau minérale que l'on a très bonne et pour rien, à Orezza, à Pardina et aux nombreuses sources ferrugineuses et gazeuses, qui jaillissent dans les cantons intéressés. On réalisera ainsi en même temps une indication du traitement anti-anémique du paludisme.

Ou bien si l'on n'a pas d'eau minérale dont on soit sûr, on ne boira que de l'eau bouillie en infusion légère de café ou de thé. «Quœdam acidula summœ utilitatis.» Mais dans tous les cas, il faut renoncer à prendre pour de la bonne eau, celle de ces sources qui jaillissent tout le long des cours d'eau ou des marécages. Ces *bolleri*, comme les paysans les nomment, et qu'ils vantent avec complaisance, produits par l'infiltration en amont des eaux de torrents ne donnent qu'une eau indigeste et chargée de toutes sortes de microbes dangereux.

Le vin doit être conseillé comme tous les toniques et Lancisi déclare sagement qu'il faut au paludéen. « Vinum nive refrigeratum cum parva aquæ copia. »

Le régime alimentaire si précaire de nos paysans devra être autant que possible amélioré, et l'on se souviendra que les hommes mal nourris sont la proie assurée de la malaria.

Destruction des moustiques,

Un troisième stade de l'assainissement consistera dans la destruction des moustiques et des larves.

On comprend que celles-ci seront plus facilement tuées puisqu'on peut les atteindre sûrement dans les eaux où elles vivent, en y versant des substances appropriées.

On a essayé un grand nombre de ces substances.

Le permanganate de potasse en solutions variées, n'a guère donné de résultats certains.

Les couleurs d'aniline sont dangereuses à manier et ne sont pas au surplus d'une grande efficacité.

Witfield s'est servi avec succès de sulfate de cuivre. Ce sel est fort employé en agriculture pour le chaulage des terrains à céréales et la confection des liquides destinés à combattre le mildew.

L'eau salée à 5 0/0 tue les larves après 15 heures et à saturation, en 30 minutes. Les nymphes plus résistantes ne meurent dans l'eau saturée de sel qu'après une heure. Le moyen ne serait vraiment pratique en Corse que si la mer était à un degré de salure suffisant pour que l'inondation par elle des marécages voisins put tuer sûrement toutes les larves. Or, nous avons vu que la Méditerrannée ne contient que 27 à 30 gr. de sel par litre. Ce n'est pas suffisant comme on voit. D'ailleurs, ce qui suffit à faire rejeter le système, c'est qu'on serait obligé après l'inondation, pour livrer les terrains à la culture, d'en faire le dessalement, opération très difficile et très coûteuse.

Celli et Casagrandi ont trouvé que la meilleure de toutes les substances destructrices des larves était l'eau sulfureuse. Il est certain que son action est efficace alors même qu'elle n'est pas saturée d'anhydride sulfureux. Dans une communication faite en 1880 à l'Académie de Médecine, on a rapporté qu'une ville en Sicile jouissait, au milieu d'une plaine desolée par le paludisme, d'une salubrité exceptionnelle grâce à une source sulfureuse qui la desservait. Tout à coup la source se tarit et bientôt la population décimée par les fièvres fut obligée d'abandonner la ville.

Il existe en Corse deux sources d'eau sulfureuse, Puzzichello et Petrapola, situées près des régions palustres. Il y a peut-être lieu d'étudier un système qui utilise leurs propriétés pour assainir les territoires voisins.

Enfin le *pétrole* est jusqu'à présent la substance destructrice de larves qu'il faut de préférence employer pour désinfecter les mares ou les eaux stagnantes qu'on ne pourrait dessécher. Voici à ce sujet les prescriptions récentes de M. Laveran.

« Pour que le pétrole s'étale bien, on aura soin de le verser sur une série de points et non en totalité au même endroit. On peut se servir, pour répandre le pétrole, d'un chiffon fixé à l'extrémité d'une perche, le chiffon imprégné de pétrole est promené à la surface de l'eau.

« Le mélange d'huile de pétrole et de goudron, donne des résultats plus satisfaisants encore que le pétrole pur, il tue les larves plus rapidement et surtout il a une action plus durable, l'évaporation étant plus lente.

« Il suffit d'employer 10 centimètres cubes de mélange de pétrole et de goudron par mètre carré d'eau. Il n'y a pas lieu de se préoccuper du cube.

« L'opération doit être faite au printemps et renouvelée tous les quinze jours jusqu'à l'apparition des premiers froids ».

Le pétrole a le grand avantage de ne point nuire aux poissons qui sont de précieux destructeurs de larves. Il faudra donc en développer la culture dans les étangs qui s'y prêteront.

Destruction des moustiques adultes. Elle est infiniment plus difficile. Celli et Casagrandi ont divisé les substances culicicides en odeurs, fumées et gaz.

Les odeurs sont la naphtaline, l'iodoforme, la muscade, le camphre et l'ail.

Les fumées sont obtenues en brûlant le tabac, les fleurs de chrysantèmes, les feuilles d'eucalyptus frais, le pyrètre.

Les gaz les plus actifs sont l'hydrogène et l'anhydride sulfureux.

Peu de ces substances tuent le moustique, elles ne font guère que l'endormir, et les grands feux en particuler, l'engourdissent seulement pendant quelques minutes. Il faudrait soumettre le moustique à l'action de la fumée pendant 48 heures pour le tuer.

On pourra cependant avec utilité, après avoir fait des pulvérisations ou des fumigations avec les précédentes substances, enduire les murailles de pétrole par exemple ou de tout autre liquide qui tue les anophèles provisoirement endormis.

En Amérique enfin, on a cultivé les libellules, grandes destructrices de moustiques et on en a obtenu, paraît-il, certains avantages.

Dessèchement

Il reste à étudier les moyens qui assureront définitivement aux régions palustres corses la salubrité et par suite donneront pour toujours à leurs habitants la santé et la richesse.

Ce dernier chapitre est plutôt du ressort des ingénieurs et du personnel des ponts et chaussées. Mais la médecine peut fixer utilement certains points de pratique.

Le principe est simple, il faut faire disparaître les eaux stagnantes. On y arrivera par deux méthodes ou bien en les transformant en eaux vives, ou bien en les desséchant.

L'avivement des eaux stagnantes ne peut se faire que dans les étangs qui bordent la côte. Les plus importants sont Biguglia, Diana, Urbino.

En installant des digues qui s'opposeront à la formation de la barre, on assurera la communication constante de ces étangs avec la mer. Un pareil système a rendu les plus grands services à Venise.

On fera dans ces étangs de fréquentes aspersions de pétrole et on évitera ainsi des frais énormes de dessèchement et de comblement. Un autre avantage de leur conservation est dans l'industrie de la pêche que l'on y pratique sur une grande échelle. Elle alimente plusieurs grands marchés corses et continentaux et fait vivre toute une population de pêcheurs.

J'ajoute cependant qu'il faudra par des remblais bien exécutés rectifier et relever leurs bords qui sont le plus souvent bas et incertains et par conséquent éminemment propres à la formation des mares productrices d'anopheles.

Le dessèchement des eaux stagnantes peut être réalisé par plusieurs méthodes.

M. Sorba, dans un intéressant travail sur la question, les divise ainsi :

1° Dessèchement par exhaussement du sol et au moyen de l'apport d'eaux chargées de limon. C'est le colmatage ;

2° Dessèchement par abaissement du plan d'eau général (curage des cours d'eau, ouverture de canaux et de fossés) ;

3° Dessèchement par endiguement des cours d'eau ;

4° Dessèchement au moyen de machines élévatoires.

Sauf pour de rares endroits, il faut en Corse renoncer au colmatage. Les cours d'eau n'ont ni l'importance ni la régularité nécessaire à l'emploi méthodique et généralisé de ce système.

Les canaux et fossés ont donné et donneront assurément les meilleurs résultats s'ils sont employés avec les autres méthodes, et entretenus avec le plus grand soin.

L'endiguement des rivières aura pour effet de régler leur cours et d'éviter par suite les inondations qui alimentent ou produisent des marécages tout le long de leurs rives.

Enfin le dessèchement par des machines élévatoires ne pourra donner de résultats que si on vient combler le bassin vidé. On évitera ainsi de voir les pluies ou les inondations reformer sur place un marécage aussi dangereux que le premier, ou bien comme pour l'étang del Sale la mer combler par des voies souterraines, le vide qu'on venait de faire à grands frais.

L'avivement des eaux stagnantes, la rectification des bords des étangs et cours d'eau, le dessèchement par les canaux, les fossés de drainage, le comblement, tout ceci doit être aussitôt complété et fixé par les plantations d'arbres et la culture.

Je n'insisterai pas sur les avantages trop visibles de la culture, mais je ferai simplement remarquer qu'elle devra forcément suivre les autres travaux d'assainissement. Pour pouvoir cultiver une terre il faut y vivre dans d'autres conditions que celles imposées aux paysans corses obligés de vivre à 20 kilomètres de leurs champs et sûrs d'y contracter en les travaillant une très grave maladie.

Les plantations d'arbres donneront tout de suite, les meilleurs sésultats. La chose est connue depuis bien longtemps. Spinola gouverneur de la Corse, pour Gênes, au XVII^{e} siècle ordonnait dans un but d'assainissement, la plantation annuelle par chaque propriétaire de 4 arbres fruitiers, en particulier des châtaigniers, des mûriers, des figuiers et des oliviers, sous peine d'une amende de 5 lires par arbre non planté.

A la montagne le reboisement régularise parfaitement le cours des torrents et l'on sait bien, depuis les coupes sombres pratiquées dans nos chataigneraies quels ravages ont faits les débordements des cours d'eau démesurément grossis. Ces débordement ont à notre point de vue particulier un grave inconvénient, puisqu'ils vont alimenter ou créer les mares d'eau croupissante où pulluleront les anophèles.

En plaine les plantations procureront un double bénéfice. D'abord les arbres qui absorbent beaucoup d'eau dessècheront pour leur bonne part et ils formeront aussi près des maisons des digues qui arrêteront les moustiques.

Enfin quelques-uns comme l'eucalyptus ont par leurs émanations une action directe sur ces insectes. On plantera utilement toutes les essences, arbres élevés, feuillus ou conifères. On les bêchera avec soin. Sur les hauteurs, de préférence, on mettra des châtaigniers et des pins laryx qui viennent très bien dans nos montagnes. Sur les dunes plutôt le pin maritime et le peuplier. Dans les terrains humides, le saule, le platane, l'ormeau, le cyprès palustre et surtout l'eucalyptus.

Cette dernière variété doit nous arrêter plus longuement pour son efficacité et l'importance que sa plantation a prise en Corse.

Plusieurs observations existent des heureux effets de l'eucalyptus et dans Laveran on trouvera relatés, sans parler du cas célèbre du couvent des Tre-Fontane à Rome, des faits probants observés en Algérie, à Aïn-Mokra et en Corse même, à Solenzara, à Aleria, par M. Michon.

Dans notre pays, Carlotti fut en 1869 le promoteur de la méthode et depuis on a entouré de bois d'eucalyptus les gares malsaines et quelques maisons d'habitation. Mais l'essai le plus considérable a été fait par les ponts et chaussées le long du Fossone entre le Golo et l'étang de Biguglia. Sur une étendue de 4 kilomètres le long du bord ouest du canal, M. Agostini a fait planter 15 à 16,000 eucalyptus élevés dans la pépinière de Furiani. Ces eucalyptus ont aujourd'hui près de 10 ans et la plupart sont déjà des arbres magnifiques. J'ai visité cette plantation, et j'ai recueilli les propos que me tenaient les ouvriers des champs environnants.

Avant les encalyptus, le nombre des moustiques était, paraît-il, si considérable dans ces localités qu'il était impossible aux habitants de faire la sieste au frais ; ils étaient obligés d'aller à 1.500 mètres de là sur le rivage de la mer d'où le vent du large éloignait les moustiques. Ils y dormaient aux heures chaudes du jour, puis ils retournaient aux champs.

Depuis la plantation, ils n'ont plus besoin de faire cette longue course et ils restent sous le couvert des encalyptus où ils n'ont jamais entendu le sifflement d'un moustique. D'ailleurs l'insalubrité de la région a notablement diminué.

Sans faire du suc de l'eucalyptus globulus, un succédané du quinquina, il est permis de voir dans ces faits une confirmation des dires de Celli et Casagrandi sur les propriétés culicifuges de l'odeur de l'encalyptus et la justification de son emploi pour l'assainissement.

◆

Conclusions

1° Nous demanderons d'abord la création de nombreux dépôts gratuits de sulfate de quinine dans les zônes palustres ;

2° La distribution, par les soins de l'administration de moustiquaires et de chassis ;

3° L'application immédiate des nouvelles découvertes en ce qui concerne l'usage du pétrole et d'une manière générale, la destruction par tous les moyens des moustiques et des larves ;

4° L'adduction d'eau potable et la création de dépôts d'eau minérale, dans les plaines marécageuses ;

5° L'extension à toute la Corse et la réalisation rapide des travaux d'assèchement proposés par les ponts et chaussées ;

6° La plantation sur une grande échelle des eucalyptus et le reboisement de la montagne ;

7° La restauration du pénitencier de Casabianaa, et la création sur d'autres points de fermes écoles ou autres établissements agricoles.

Vu : Le Président de la Thèse,
M. DEBOVE.

Vu : Le Doyen,
BROUARDEL.

Vu et permis d'imprimer,
le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,
GRÉARD.

Paris. — L. BOYER, imprimeur, 15, rue Racine.

'itts, R.F.,
+ Mast, S.O.

④

33. **Pitts, Robert Franklin, and Samuel Ottmar Mast**

1933. The relation between inorganic salt concentration, hydrogen ion concentration and physiological processes in Amoeba proteus

I. Rate of locomotion, gel/sol ratio, and hydrogen ion concentration in balanced salt solutions

J. Cell. & Comp. Physiol., v. 3, no. 4, Oct. 20

Protozoölogy Amoeba proteus

Physiology { experimental
 movement

Locomotion rate { effect of pH on
 effect of salt concentration on

Gel/sol ratio—relation to pH and salt concentration

THE WISTAR INSTITUTE PRESS
Philadelphia, Pa., U.S.A.

Reprinted from the JOURNAL OF CELLULAR AND COMPARATIVE PHYSIOLOGY
Vol. 3, No. 4, October, 1933

THE RELATION BETWEEN INORGANIC SALT CONCENTRATION, HYDROGEN ION CONCENTRATION AND PHYSIOLOGICAL PROCESSES IN AMOEBA PROTEUS

I. RATE OF LOCOMOTION, GEL/SOL RATIO, AND HYDROGEN ION CONCENTRATION IN BALANCED SALT SOLUTIONS

R. F. PITTS AND S. O. MAST
Zoölogical Laboratory, Johns Hopkins University

ONE FIGURE

(Received for publication June 28, 1933)

INTRODUCTION

There have been numerous investigations concerning respectively the effects of hydrogen ions and salts on various physiological processes, but there have been relatively few concerning the effect of either of these in relation to that of the other.

Lillie ('06) found in observations on the epithelial cells of the gills of Mytilus edulis that a solution of sodium chloride, isotonic with sea water, is less injurious in high than in low hydrogen ion concentrations. Loeb ('11) maintains that the injurious effect of acids on eggs of Fundulus is decreased if the sodium chloride concentration is increased. Osterhout ('12) comes to a similar conclusion in reference to Laminaria; as does also Armstrong ('28) in reference to eggs of Fundulus. Barth ('29) asserts that in carbon dioxide free sea water the hydrogen ion concentration necessary for coagulation of the cytoplasm in the eggs of Arbacia is higher for inorganic than it is for organic acids, but that in solutions of sodium chloride isotonic with sea water, it is practically the same.

All these investigations clearly show that the action of hydrogen ions is correlated with the salts present, but they give little if any information concerning the interrelation between this action and the kind and the concentration of the salts present.

Farr and Chalkley obtained results which directly concern this interrelation. Farr ('28) observed that as the hydrogen ion concentration decreases, the rate of growth of root hairs of Georgia collards in solutions of $CaCl_2$ increases to a maximum, then decreases to a median minimum, after which it again increases to a maximum and then decreases to zero; but that the concentrations of hydrogen ions in which the maximum and the minimum rates of growth occur depend upon the concentration of $CaCl_2$. Chalkley ('30) found that as the hydrogen ion concentration decreases, the lethal temperature for Paramecium increases to a maximum, then decreases to a median minimum, after which it increases to a second maximum, but that the hydrogen ion concentrations for the maximum and the minimum vary greatly with the kinds of salt present.

The results obtained by Farr consequently indicate that the effect of hydrogen ions on physiological processes is specifically correlated with the concentration of the salts present and those obtained by Chalkley that it is specifically correlated with the kind of salts present.

Pantin ('23) and Hopkins ('26) studied the effects of variation in hydrogen ion concentration on locomotion in Amoeba. Pantin working on marine limax amoebae used sea water, Hopkins working on Amoeba proteus used a modified Ringer solution. Mast and Prosser ('32) investigated the relation between rate of locomotion and gelation in Amoeba proteus and hydrogen ion concentration in a given salt solution, and the relation between these processes and salt concentration in a given hydrogen ion concentration. However, the interrelation between these processes and hydrogen ion concentration and salt concentration in different salt solutions was not ascertained in any of these investigations. It is the purpose of this series of papers to present detailed information concerning these and other correlations, the present paper being specifically concerned with the relations as they exist in a balanced salt solution.

MATERIALS AND METHODS

Organisms. Amoeba proteus (Leidy) was used exclusively in the experiments considered in the following pages. The amoebae were cultured in Chalkley solution[1] containing rice. By occasionally removing a small amount of old culture fluid and replenishing it with fresh, the hydrogen ion concentration was kept fairly constant around pH 6.6.

Apparatus. By means of a bath (Pitts, '32) a temperature of 23 ± 0.5° was continuously maintained in all the experiments made. The small dishes inserted in the bath were made from 50 cc. Pyrex glass beakers by cutting off the bottoms.[2] The edges were ground flat so that a small glass cover could be sealed on. This was found necessary to prevent changes in hydrogen ion concentration during the course of the experiment whenever solutions more alkaline than pH 6.2 were used.

Measurements of hydrogen ion concentrations were for the most part made with the use of a quin-hydrone electrode. Whenever a colorimetric method was used, either Sørensen's phosphate or McIlvaine's phosphate-citrate buffers were used as standards.

Preparation of solutions. All chemicals used were Kahlbaum purest. Salts were carefully dried and weighed; the calcium phosphate, hydroxide and chloride were standardized by the method of Kramer and Tisdall; magnesium chloride was standardized as chloride by the method of Van Slyke; and the sodium and potassium hydroxides were standardized against constant boiling point hydrochloric acid.

---

[1] The composition of Chalkley solution follows: 80 mgm. NaCl, 4 mgm. $NaHCO_3$, 4 mgm. KCl, 4 mgm. $CaCl_2$, 2 mgm. $CaH_4(PO_4)_2$, 2 mgm. $Mg_3(PO_4)_2 \cdot 4H_2O$, and water to 1 liter.

[2] Hopkins ('29) maintains that the rate of locomotion in Amoeba varies with the nature of the substratum, and that it is more nearly constant on either quartz or Pyrex glass than on common glass. Pyrex glass was, therefore, used in the following observations.

In order to vary the hydrogen ion concentration and at the same time keep the metallic cation concentration constant, a primary phosphate-hydroxide buffer system was used in which the concentration of the cation was identical in the phosphate and in the hydroxide. Hence on mixing the two, no change in metallic cation concentration occurred, no matter what the proportions were. By varying the proportions of the phosphate and hydroxide, a graded series of hydrogen ion concentrations was obtained extending from pH 5.0 to 8.0. The concentration of the cation was varied by changing its concentration in both the phosphate and hydroxide, always, however, keeping it from same in both.

Immediately after preparing a given dilution of the phosphate and hydroxide, a 50-cc. sample of the phosphate was pipetted into a flask and an electrometric titration made, titrating to E.M.F. values corresponding to the hydrogen ion concentrations used. Then to prepare a solution of a given hydrogen ion concentration all that was necessary, was to refer to the titration curve, ascertain the amount of base necessary and to add this amount to 50 cc. of the acid phosphate. As soon as each solution was prepared its hydrogen ion concentration was checked electrometrically and adjusted if necessary. After the completion of the experiment, the solution was removed from the test dish and its hydrogen ion concentration again checked electrometrically or colorimetrically. No evident change occurred in any of the experiments except those in which alkaline solutions were used. Solutions of pH 8.0 or 7.8 shifted in the acid direction during a period of 3 hours to an extent of from 0.05 to 0.3 pH units depending on the concentration of the buffer. If the dishes were not vaseline sealed, the shift was much greater. Results obtained in experiments in which any considerable shift occurred were rejected.

Observation. About 500 amoebae were removed from vigorous cultures and put into watch glasses. They were then allowed to settle and attach, after which the culture fluid was removed with a pipette. About 5 cc. of redistilled water[3] was now poured on and removed with a pipette.[4] This was repeated until the animals had been in four changes of redistilled water. During this time most of the amoebae assumed a radiate form. These were removed and distributed in four Pyrex glass dishes each containing about 5 cc. of the solution under consideration. This solution was changed three times, then the dishes were sealed with vaseline, after which the amoebae (about 100 in each dish) were left for an hour for adjustment and to become monopodal.

The rate of locomotion was ascertained as follows: A dish containing amoebae in the desired experimental solution was inserted in the temperature bath and left 10 minutes for adjustment of temperature. The bath was then placed on the stage of the microscope and a strictly monopodal specimen[5] selected. The image of this specimen was now, with a camera lucida, projected on black paper, and the position of the posterior end marked with a white pencil at minute intervals during a period of from 5 to 7 successive minutes.[6] Another monopodal specimen was then selected and the process repeated. After measurements were made on about five monopodal specimens, the dish was removed from the bath and another substituted, after which the process was repeated.

The total length of a line in millimeters joining the midpoints of these sketches of the posterior end divided by the number of minutes of measurement gives the rate of locomotion of the projected image in millimeters per minute. To obtain the rate of locomotion of the amoebae in micra per minute this value is multiplied by 13.2.

---

[3] Triple distilled water from a tandem Pyrex glass still (Mast, '29) was used in washing the amoebae and in the preparation of all solutions.

[4] This type of treatment involved a minimum of handling of the amoebae with a pipette and therefore minimum mechanical injury.

[5] A strictly monopodal amoeba is defined as an elongated cylindrical animal, smooth in outline, which moves continually by the projection of a single pseudopod. Pitts ('33) demonstrated that animals of this form move at a fairly constant velocity with a minimum of variation between different measurements on the same animal and between different animals in the same medium.

[6] Measurements of rate of locomotion were made under a 40 mm. objective and 15X oculars.

After the rate of locomotion of five amoebae had been measured as described above the gel/sol ratio was ascertained as described by Mast and Prosser ('32, p. 335).

It would appear logical first to establish the relation between hydrogen ion concentration, rate of locomotion and gel/sol ratio in a solution as nearly like the culture medium as possible. Consequently, since the amoebae used in this investigation were cultured in Chalkley solution, the various hydrogen ion concentrations tested were obtained by modifying this solution. Two solutions, an acid and an alkaline solution, were prepared as described above. They were mixed in various proportions so as to produce a series of solutions which differed in hydrogen ion concentration but were the same in cation concentration and ratio (table 1). These solutions will hereafter be designated balanced salt solutions. The results obtained in observations on rate of locomotion and gel/sol ratio in amoebae in them are presented in table 2 and figure 1.

TABLE 1

Composition of the solution used to ascertain the effect of hydrogen ion concentration on rate of locomotion and gel/sol ratio in a balanced salt solution. To obtain different hydrogen ion concentrations the acid and the alkaline components were mixed in different proportions.

Note that the concentration of Na, K, Ca and Mg remains constant no matter what the proportion of the two components is.

In the second series of experiments the concentration of all the salts was increased five times

ACID COMPONENT		ALKALINE COMPONENT		MOLAR RATIO
NaH_2PO_4	0.00150N	NaOH	0.00150N	Na 60
KH_2PO_4	0.00010N	KOH	0.00010N	K 4
$CaH_4(PO_4)_2$	0.00010N	$Ca(OH)_2$	0.00010N	Ca 2
$MgCl_2$	0.00005N	$MgCl_2$	0.00005N	Mg 1

RATE OF LOCOMOTION

Table 2 shows that the variation in rate of locomotion was remarkably low resulting in relatively small probable errors.

It shows that as the hydrogen ion concentration increased the average rate of locomotion increased rapidly from 148.9 μ per minute at pH 8.0 to a maximum at pH 7.5, then decreased slightly to a median minimum at pH 7.0, after which it increased to a maximum at pH 6.2, then decreased, at first gradually, and then very rapidly to zero between pH 5.0 and pH 4.6. It also shows there was remarkably little difference in the rate in the hydrogen ion concentrations between pH 5.0 and pH 7.5, the mean rate over this range being 267 μ per minute, with a maximum deviation from this mean of only 11.2 μ or 4.19 per cent.

TABLE 2

The relation between hydrogen ion concentration and rate of locomotion in Amoeba proteus in a balanced salt solution. The mean rate was calculated from the rate of the projected image observed in each individual during 5 to 7 consecutive minutes. To obtain the rate of locomotion in micra per minute, multiply the rate of the projected image by 13.2

pH	NUMBER OF INDIVIDUALS	RATE OF LOCOMOTION				
		Projected image of Amoeba, millimeters per minute				Amoeba
		Mean rate	Per cent probable error	Standard deviation	Coefficient of variation	Mean rate in micra/minutes
4.6		0				0
5.0	55	19.47 ± 0.26	1.32	2.82 ± 0.18	14.5 ± 1.0	257.0 ± 3.6
5.3	55	19.75 ± 0.25	1.26	2.74 ± 0.18	13.9 ± 0.9	260.7 ± 3.3
5.6	55	20.47 ± 0.24	1.15	2.59 ± 0.17	12.7 ± 0.8	270.2 ± 3.2
5.9	56	21.04 ± 0.18	0.86	2.03 ± 0.13	9.6 ± 0.6	277.7 ± 2.4
6.2	55	21.35 ± 0.20	0.92	2.16 ± 0.14	10.1 ± 0.7	281.8 ± 2.6
6.5	57	20.62 ± 0.23	1.11	2.55 ± 0.15	12.4 ± 0.8	272.2 ± 3.0
6.8	55	19.84 ± 0.21	1.09	2.33 ± 0.16	11.7 ± 0.8	261.9 ± 2.8
7.0	55	19.44 ± 0.23	1.18	2.52 ± 0.16	13.0 ± 0.9	256.6 ± 3.0
7.2	56	20.06 ± 0.21	1.06	2.36 ± 0.15	11.8 ± 0.8	264.8 ± 2.8
7.5	55	20.52 ± 0.22	1.06	2.40 ± 0.15	11.7 ± 0.8	270.9 ± 2.9
7.8	59	16.87 ± 0.26	1.52	2.92 ± 0.18	17.3 ± 1.1	222.7 ± 3.4
8.0	50	11.28 ± 0.31	2.75	3.25 ± 0.22	28.8 ± 2.1	148.9 ± 4.1
8+		0				0

The rapid decrease in rate at the acid end of the range was largely if not entirely due to the failure of the amoebae to attach in solutions which were more acid than pH 5.0, in spite of the fact that they appeared perfectly normal and exhibited marked streaming of the plasmasol. Owing to disintegration of the amoebae there was no locomotion in solutions more alkaline than pH 8.0.

By examining the table it will be seen that the difference in the mean rates in adjoining hydrogen ion concentrations in the series used was so small that the probable errors, al-

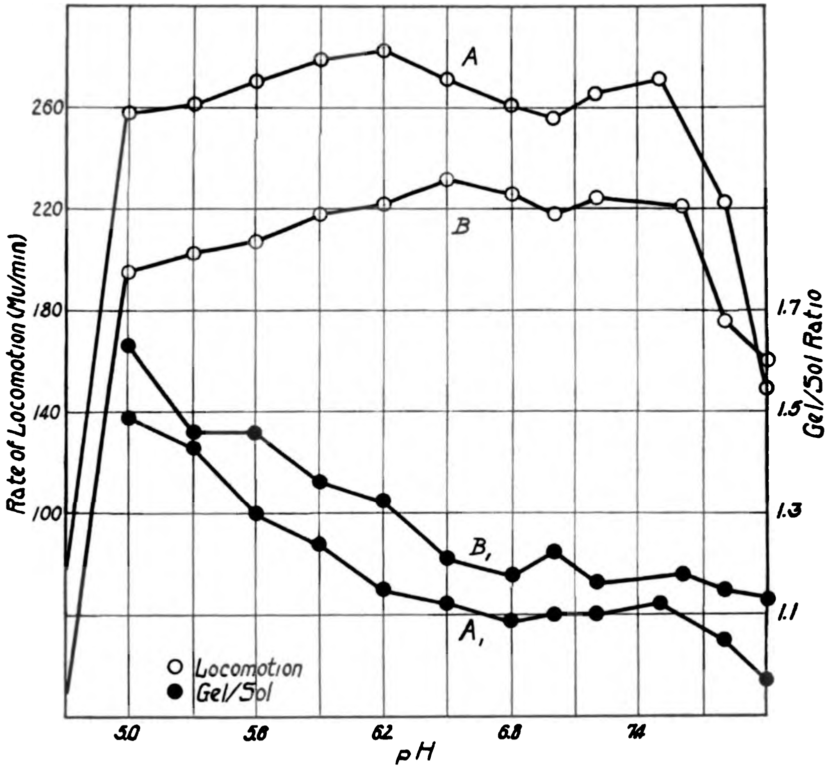


Fig. 1 The relation between rate of locomotion, gel/sol ratio, and hydrogen ion concentration in a balanced salt solution. A, A_1, rate of locomotion and gel/sol ratio in solutions containing salts in concentrations given in table 1; B, B_1, rate of locomotion and gel/sol ratio in salts in concentrations five times as great as those given in table 1. Curve A, mean rates of movement of images of amoebae given in table 2; B, means of the rates of movement of seventeen to twenty-four individuals for from 5 to 7 minutes each in each hydrogen ion concentration; A_1 and B_1, mean gel/sol ratios calculated from results obtained in measurements made on seventeen to twenty-four individuals in each hydrogen ion concentration as described above.

though also relatively very small, show that there was much overlapping of the rates observed in adjoining hydrogen ion concentrations. However, the mean rates of locomotion varied so consistently with changes in hydrogen ion concentration throughout the whole range that the correlation between these means and the hydrogen ion concentration indicated in the table is doubtless valid. The most interesting phase of this correlation, it should be emphasized, is the marked median minimum at neutrality with a maximum rate in the acid range and in the alkaline range.

Table 2 shows that as the hydrogen ion concentration decreased from pH 5.0 the coefficient of variation decreased to a minimum at pH 5.9, then increased to a maximum at pH 7.0, after which it decreased to a second minimum at pH 7.5, and then rapidly increased again. That is, it shows that variability in the rate of locomotion varies inversely with the rate of locomotion throughout the entire range of hydrogen ion concentrations tested.

To ascertain the effect of salt concentration on the relation between rate of locomotion and hydrogen ion concentration, the observations described above were repeated with solutions identical in composition but five times as concentrated. The results obtained are graphically presented in figure 1, in which is also a graphic presentation of the results obtained in the preceding experiments. By referring to this figure it will be seen that the two curves, A and B, representing respectively the relation between rate of locomotion and hydrogen ion concentration in the two salt concentrations used are similar; i.e., that there was a median minimum rate at pH 7.0 in both and a maximum in the acid range and in the alkaline range in both. It will be seen, however, that the difference between the maximum and the median minimum rates was less in the more concentrated solution and that the two maxima were nearer together, indicating decrease in the difference between maximum and median minimum rates with increase in salt concentration. If this is true the median minimum should disappear entirely with increase in salt concentration. This contention was unfortunately not investigated, but the problem concerning the factors involved in the median minimum will be considered in one of the following papers in this series.

The curves referred to above show clearly that the rate of locomotion was markedly higher in the less concentrated solutions, throughout the entire range of hydrogen ion concentrations except at the two extreme limits. This indicates that the rate of locomotion in Amoeba proteus is specifically correlated with the salt concentration, but it unfortunately gives no information concerning the optimum concentration. This conclusion is in accord with the contention of Mast and Prosser ('32) concerning the relation between rate of locomotion in Amoeba proteus and salt concentration.

The results presented above concerning the relation between rate of locomotion and hydrogen ion concentration do not agree with those obtained by Pantin ('23) in observations on a marine limax amoeba, for he found that as the hydrogen ion concentration decreases, the rate of locomotion increases from zero at pH 5.9 to a maximum at pH 8.5 and then rapidly decreases to zero. They also differ greatly from those obtained by Hopkins ('26) in observations on Amoeba proteus, but they are in close agreement with those obtained by Mast and Prosser. These authors say ('32, p. 349): "the rate of locomotion increased to a maximum at about pH 7.4, then decreased to a minimum at about 7, after which it increased to a secondary maximum at about 6.8 and then decreased consistently to the end of the range tested." Thus they find an acid maximum at pH 6.8 which agrees fairly well with the one at pH 6.2 in figure 1 above; and an alkaline maximum at pH 7.4 which agrees very well with the one at pH 7.5. Moreover agreement is complete in so far as the median minimum at pH 7.0 is concerned and the rapid decrease in rate in solutions more alkaline than pH 7.5.

THE GEL/SOL RATIO

The results obtained in observations on the relative thickness of the plasmagel and the plasmasol are presented in figure 1, curves A_1 and B_1. These curves show that the gel/sol ratio was consistently throughout the entire range of hydrogen ion concentrations tested, considerably higher in the more concentrated of the two series of solutions than in the less concentrated. They show in both of the series of solutions that the gel/sol ratio decreased as the hydrogen ion concentration decreased and that the decrease in this ratio was marked, but that the rate of decrease was somewhat greater in the acid range than in the alkaline range.

These results are in fair agreement with those obtained by Mast and Prosser ('32). They indicate that the more acid the solution and the higher its salt concentration, the more plasmagel in relation to plasmasol, that is, that increase in acidity and in salt concentration induces gelation of plasmasol.

Chambers ('21), Lewis ('23), Leo Loeb ('24), Heilbrunn ('28), Barth ('29), and others, maintain that the viscosity of cytoplasm varies directly with acidity. This contention is in a sense in harmony with the conclusion presented above. It should be stated, however, that the gel/sol ratio is not a direct measure of viscosity; for, though it is a measure of the relative amounts of plasmagel and plasmasol, it gives no indication of the absolute viscosity of either.

By comparing the curves A and B with the curves A_1 and B_1 it at once becomes evident that there is no direct correlation between rate of locomotion and gel/sol ratio in Amoeba proteus. This shows that the rate of locomotion in this form is not directly dependent upon the relative thickness of the plasmagel and the plasmasol.

In the preceding discussion it has been assumed that the differences in the rate of locomotion and in the gel/sol ratio considered were due to differences in hydrogen ion concentration of the solutions in which the measurements were made. This assumption is, however, only partially justified, for while the metallic cation concentration was constant throughout the range, both the ratio of primary to secondary phosphate and the total concentration of phosphate decreased as the hydrogen ion concentration decreased.

The results may, therefore, have been due, at least in part, to change in concentration and in ratio of anions, and to change in osmotic pressure of the solution. It will be shown in a later paper that the results are not due to change in ratio of anions. The second consideration can be ruled out on the basis of data at hand. Between pH 5.0 and pH 8.0 there is a decrease in osmotic pressure calculated as not exceeding 20 per cent. This change is a function of dilution of the phosphate of the acid component by the addition of the alkaline component and therefore varies regularly though not linearly with hydrogen ion concentration. The rate of locomotion, however, remains fairly constant between pH 5.0 and pH 7.5 (the range of maximum change in osmotic pressure) and then drops suddenly at pH 8.0. Furthermore, the difference in osmotic pressure between the dilute and the concentrated solution (curves A and B) at the same hydrogen ion concentration is at least twenty-five times greater than the maximum difference in osmotic pressure in a given series of solutions between pH 5.0 and 8.0. Yet the maximum difference in rate of locomotion in the two salt concentrations (curves A and B) at any given hydrogen ion concentration is less than the variation in the rate of locomotion in the more dilute solution between pH 5.0 and 8.0 (curve A), though the change in osmotic pressure is twenty-five times as great. From this consideration it is concluded that the curves presented describe the relation between rate of locomotion and hydrogen ion concentration and are not appreciably affected by the relatively small changes in osmotic pressure.

The processes involved in the interrelations established will be considered in the third paper in this series.

SUMMARY

1. As the acidity decreases the rate of locomotion of Amoeba proteus in a balanced salt solution increases to a

maximum at pH 6.2, then decreases to a median minimum at pH 7.0 after which it increases to a secondary maximum at pH 7.5 and then rapidly decreases to zero at pH 8.0+.

2. The rate of locomotion varies remarkably little over the range of hydrogen ion concentration from pH 5.0 to pH 7.5.
3. The rate of locomotion throughout the entire range of hydrogen ion concentrations tested varies inversely with the salt concentration but the relation between rate of locomotion and hydrogen ion concentration is independent of the salt concentration, except that the difference between maximum and median minimum rates probably decreases with increase in salt concentration.
4. The gel/sol ratio varies directly with the acidity and with the salt concentration, i.e., the higher the hydrogen ion and the salt concentrations, the more plasmagel in relation to plasmasol. This probably holds only for a limited range of concentrations.
5. The rate of locomotion is not directly correlated with the gel/sol ratio.

LITERATURE CITED

Armstrong, P. B. 1928 The antagonism between acetic acid and the chlorides of sodium, potassium, and calcium as manifested in developing Fundulus embryos. J. Gen. Physiol., vol. 11, pp. 515–523.

Barth, L. G. 1929 The effect of acids and alkalis on the viscosity of protoplasm. Protoplasma, vol. 7, pp. 505–534.

Chalkley, H. W. 1930 On the relation between resistance to heat and the mechanism of death in Paramoecium. Physiol. Zool., vol. 3, pp. 425–440.

Chambers, R. 1921 The effect of experimentally induced changes in consistency on protoplasmic movement. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., vol. 19, pp. 87–88.

Farr, C. H. 1928 Studies on the growth of root hairs in solutions. IV. The pH-molar-rate relation for collards in calcium chloride. Am. J. Bot., vol. 15, pp. 6–31.

Hopkins, D. L. 1926 The effect of hydrogen ion concentration on locomotion and other life processes in Amoeba proteus. Proc. Nat. Acad. Sci., vol. 12, pp. 311–315.

——— 1929 The effects of substratum, divalent and monovalent cations on locomotion in Amoeba proteus. J. Morph. and Physiol., vol. 48, pp. 371–383.

LEWIS, M. R. 1923 Reversible gelation in living cells. Johns Hopkins Univ. Hosp. Bull., vol. 34, pp. 373–379.

LILLIE, R. S. 1906 The relation of ions to contractile processes. I. The action of salt solutions on the ciliated epithelium of Mytilus edulis. Am. J. Physiol., vol. 17, pp. 89–141.

LOEB, J. 1911 The role of salts in the preservation of life. Science, N.S., vol. 34, pp. 653–665.

LOEB, L. 1921 Amoeboid movement, tissue formation, and consistency of protoplasm. Am. J. Physiol., vol. 56, pp. 141–167.

MAST, S. O. 1929 Mechanics of locomotion in Amoeba proteus with special reference to the factors involved in attachment to the substratum. Protoplasma, vol. 8, pp. 344–377.

MAST, S. O., AND C. L. PROSSER 1932 Effect of temperature, salts, and hydrogen ion concentration on rupture of the plasmagel sheet, rate of locomotion, and gel/sol ratio in Amoeba proteus. J. Cell. and Comp. Physiol., vol. 1, pp. 333–354.

OSTERHOUT, W. J. V. 1912 The permeability of protoplasm to ions and the theory of antagonism. Science, N.S., vol. 35, pp. 112–115.

PANTIN, C. F. A. 1923 On the physiology of amoeboid movement. I. J. Mar. Biol. Assoc., vol. 13, pp. 24–69.

——— 1924 On the physiology of amoeboid movement. II. The effect of temperature. Brit. J. Exp. Biol., vol. 1, pp. 519–537.

PITTS, R. F. 1932 Constant temperature apparatus adapted for use on the microscope stage. Science, N.S., vol. 76, pp. 626–627.

——— 1933 The relation between rate of locomotion and form in Amoeba proteus. Biol. Bull., vol. 64, pp. 418–423.

SCHWITALLA, A. M. 1924 The influence of temperature on the rate of locomotion in Amoeba. II. The rate of locomotion of Amoeba at different temperatures. J. Morph. and Physiol., vol. 41, pp. 45–62.

Pitts, R.F.
and Mast. S.O. ⑤
1934. The relation between inorganic concentration hydrogen
ion concentration and physiological proceeds in Amoeba proteus.

Reprinted from the JOURNAL OF CELLULAR AND COMPARATIVE PHYSIOLOGY
Vol. 4, No. 2, February, 1934

THE RELATION BETWEEN INORGANIC SALT CONCENTRATION, HYDROGEN ION CONCENTRATION AND PHYSIOLOGICAL PROCESSES IN AMOEBA PROTEUS

II. RATE OF LOCOMOTION, GEL/SOL RATIO, AND HYDROGEN ION CONCENTRATION IN SOLUTIONS OF SINGLE SALTS

R. F. PITTS AND S. O. MAST
Zoölogical Laboratory, The Johns Hopkins University

SEVEN FIGURES

(Received for publication October 16, 1933)

INTRODUCTION

In the preceding paper of this series it was demonstrated that in a balanced salt solution simulating the culture medium, the curve expressing the relation between hydrogen ion concentration and rate of locomotion in Amoeba proteus is bimodal with maxima at pH 6.2 and 7.5, and a median minimum at pH 7.0, and that the rate of locomotion in this solution is not directly correlated with the gel/sol ratio. Edwards and Forgrave ('23), and Mast and Hulpieu ('30), showed that the rate of locomotion of Amoeba proteus in solutions of single salts depends on the kind and the concentration of salt present. Mast and Prosser ('32) confirmed this and they ascertained the gel/sol ratio in relation to the concentration of the salts, but they did not ascertain the relation between rate of locomotion, gel/sol ratio, hydrogen ion concentration, and salt concentration. The following pages concern this relation in sodium, potassium, and calcium salt solutions.

SODIUM SALTS

Observations were made on the effect of hydrogen ion concentration on rate of locomotion and gel/sol ratio in solutions containing sodium ions in four different concentrations, namely, 0.001N, 0.002N, 0.005N, and 0.01N. These solutions consisted of sodium phosphate buffer mixtures (NaH_2PO_4+ NaOH). By mixing in different proportions the primary phosphate of a given concentration in reference to sodium with the hydroxide of the same concentration, a series of hydrogen ion concentration was obtained with the same sodium ion concentration throughout.[1] The observations were made as described in the preceding paper. The results obtained are presented in figure 1. For evidence concerning individual variation in the rate of locomotion in Amoeba proteus see table 2 in the preceding paper.

Figure 1 shows clearly that the effect of hydrogen ion concentration on the rate of locomotion in sodium salt solutions depends upon the salt concentration. It shows that as the hydrogen ion concentration decreased the rate of locomotion in each sodium concentration used increased gradually to a maximum and then decreased rapidly to zero, but that the maximum shifted from pH 6.8 in sodium concentration of 0.001N to pH 5.3 in sodium concentration of 0.01N, and that the most alkaline solution in which locomotion was observed shifted from pH 8.0 to 6.8. It is especially noteworthy as indicated in figure 1, that at any given hydrogen ion concentration the rate of locomotion decreases as the salt concentration increases, and that the curves deviate more widely as the solutions become more alkaline, indicating that the effects of difference in salt concentration become more pronounced as the solution becomes more alkaline.

By comparing the curves in figure 1 with curves A and B in figure 1 in the preceding paper it will be seen that the results obtained in the four concentrations of the sodium salt solution are markedly different from those obtained in the balanced salt solution in that in the former there is no double optimum and there is a marked decrease in the rate of locomotion in hydrogen ion concentration lower than pH 7.0. These results indicate that the bimodal curves obtained by Hopkins, and Mast and Prosser, and those presented in the preceding paper are due either to the combination of different salts used or to the concentration of the salts present.

---

[1] At the time these results were obtained only a colorimetric method for hydrogen ion determination was available, the standards ranging from pH 5.3 to pH 8.0.

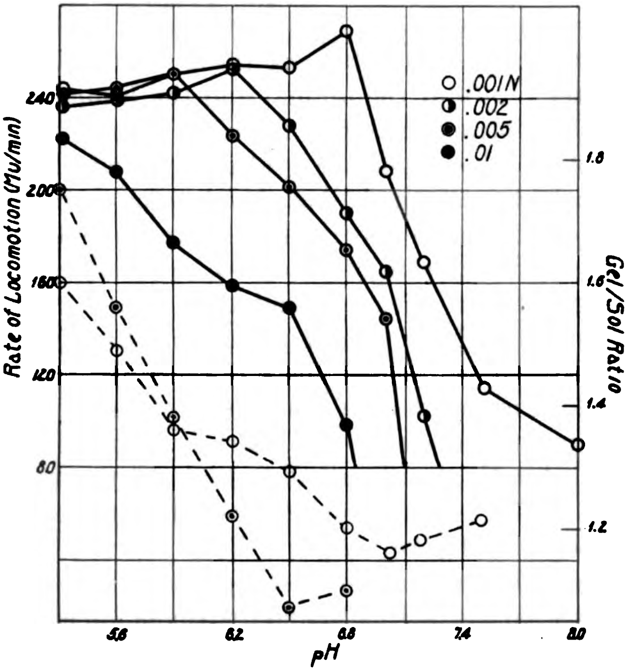


Fig. 1 The relation between rate of locomotion, gel/sol ratio, hydrogen ion concentration and sodium ion concentration. Each of the curves represents a series of experiments conducted at constant sodium ion concentration. The four solid curves are based on the measurement of rate of locomotion of an average of 14.8 different specimens for an average of 88.1 minutes in each hydrogen ion concentration tested. The two broken curves are based on the measurement of the gel/sol ratio in an average of 19 different specimens in each hydrogen ion concentration tested.

The gel/sol ratio of the amoebae used in ascertaining the rate of locomotion in the observations considered above was measured as described in the preceding paper. Figure 1 indicates that as the hydrogen ion concentration decreased the gel/sol ratio rapidly decreased to a minimum, and then increased slightly. The following discussion indicates, however, that while the gel/sol ratios indicated in the first part of the curves are doubtless nearly correct, those indicated in the second part are not.

It is customary in ascertaining the gel/sol ratio, to measure the outer limits of the animal and the limits of the plasmasol and to subtract the latter from the former to obtain the thickness of the plasmagel, the hyaline layer which is included as gel being normally in balanced solutions not sufficient to cause any considerable error. But it was noted that as the solutions of sodium salts became less acid this hyaline layer increased greatly in thickness and that it was impossible to distinguish definitely the outer border of the plasmagel and thus to make correction for the hyaline layer. The results obtained in the more alkaline solutions are therefore too large. It is consequently probable that there is actually no increase in the gel/sol ratio as the alkaline limit of the range is approached. If this is true it will be seen by comparing figure 1 in this paper with figure 1 A_1 and B_1 in the preceding paper that although the magnitude of the gel/sol ratios differs, the relation between gel/sol ratio and hydrogen ion concentration in the 0.001N and 0.005N sodium solutions and in the balanced salt solutions is qualitatively similar in that the amount of plasmasol increases at the expense of the plasmagel as the hydrogen ion concentration decreases. The curves in figure 1 show that in the more acid range (pH 5.3 to 5.9) the gel/sol ratio was higher in the more concentrated solution, i.e., that in this range the relation between gel/sol ratio and salt concentration was the same for the sodium salt solution as it was for the balanced salt solutions, but that in the less acid range (pH 5.9 to 6.5) the reverse obtained.

POTASSIUM SALTS

The observations on amoebae in solutions containing potassium as the only metallic cation were made with potassium phosphate buffers (KH_2PO_4+KOH) made up in the same way as the sodium phosphate buffers used in the preceding experiments with the exception that in the extreme acid range primary potassium phosphate containing phosphoric acid in equimolar concentration was added to primary potassium phosphate in varying amounts ($KH_2PO_4+KH_2PO_4,H_3PO_4$). However, the concentration of potassium was the same in all the mixtures for it was present in the same concentration in all the solutions used. Experiments were performed with solutions containing potassium ions in three different concentrations, namely, 0.001N, 0.005N, and 0.01N. The results obtained are presented in figure 2.

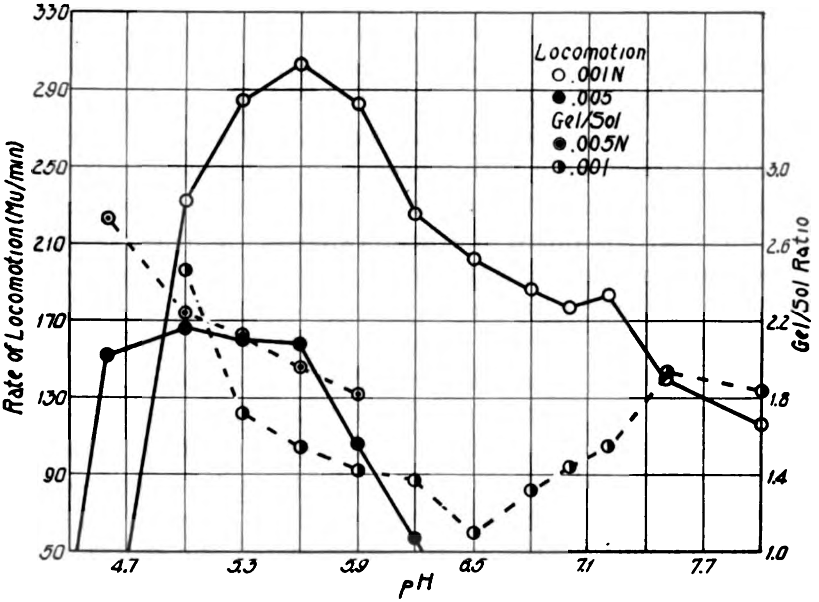


Fig. 2 The relation between rate of locomotion, gel/sol ratio, hydrogen ion concentration, and potassium ion concentration. Curve ○, mean rate of locomotion in 0.001N based on measurements on an average of 22.2 different specimens for a total average of 111.4 minutes in each hydrogen ion concentration tested; curve ●, mean rate of locomotion in 0.005N, based on measurements on an average of 12 different specimens for a total average of 69.3 minutes in each hydrogen ion concentration tested; curve ◑, mean gel/sol ratio in 0.001N based on measurements on an average of 18.7 different specimens in each hydrogen ion concentration tested; curve ⊙, mean gel/sol ratio in 0.005N based on measurements on an average of 12.2 specimens in each hydrogen ion concentration tested.

It will be seen by comparing figure 2 with figure 1, that the results obtained with potassium are in a general way similar to those obtained with sodium. These figures show that there was for both salt solutions a single optimum for locomotion which lay on the acid side of neutrality, that the position of the optimum was more acid in potassium solutions than in sodium solutions of the same concentration, that low rates of locomotion in the alkaline range were noted in both sodium and potassium solutions, and that the most alkaline solution in which locomotion occurred was in both shifted more and more to the acid side with increase in salt concentration. It will also be seen that the optimum hydrogen ion concentration in both shifted toward the acid range with increase in salt concentration, but that the extent of the shift was less in potassium solutions than in sodium solutions, the shift in sodium solutions having been from pH 6.8 to pH 5.9, with increase in concentration from 0.001N to 0.005N, while in potassium it was only from pH 5.6 to uH 5.0 for corresponding change in concentration. Furthermore it will be seen that the most acid solution in which locomotion occurred for potassium solutions was increased with increased salt concentration; that is, the more concentrated the solution, the higher the hydrogen ion concentration required to prevent attachment.

Thus in general, the relation between rate of locomotion, hydrogen ion concentration, and salt concentration appears to be essentially the same for solutions of potassium and sodium salts. The only marked difference found is that in potassium solutions 0.010N, no locomotion was observed in any of the hydrogen ion concentrations tested (pH 4.2 to pH 8.0). while in the sodium solution 0.010N, locomotion was observed in hydrogen ion concentrations between pH 5.3 and pH 6.8.

Figure 2 shows that in potassium solutions as in sodium solutions the gel/sol ratio decreases as the hydrogen ion concentration decreases. The marked rise in gel/sol ratio in the 0.001N potassium solution in the alkaline range is probably due to increase in the hyaline layer as explained above.

CALCIUM SALTS

The observations on amoebae in solutions containing calcium as the only metallic cation were made with calcium phosphate buffers ($CaH_4(PO_4)_2+Ca(OH)_2$), with dilute phosphate buffers ($CaH_4(PO_4)_2CaCl_2+Ca(OH)_2,CaCl_2$), and without buffing ($CaCl_2+Ca(OH)_2,CaCl_2$) depending on the hydrogen ion concentration and the salt concentration desired. Calcium becomes more and more insoluble in phosphate solution as the hydrogen ion concentration decreases. It was therefore found to be necessary to reduce the phosphate in preparing solutions with an hydrogen ion concentration of pH 6.8 and 7.0 in calcium 0.005M, and to omit it in preparing solutions with hydrogen ion concentrations of pH 8.0 in calcium 0.001M and of pH 7.5 and 8.0 in calcium 0.005M. This was done by substituting $CaCl_2$ in part or entirely for $CaH_4(PO_4)_2$ as indicated above.

The results obtained are presented in figure 3. By referring to this figure, it will be seen that in solutions containing calcium 0.001M, the rate of locomotion was practically independent of hydrogen ion concentration over the entire range studied, but that in solutions containing calcium 0.005M, as the hydrogen ion concentration decreased the rate of locomotion increased rapidly at first, and then more gradually to a maximum at pH 7.5, after which it decreased slightly.

On comparing figure 3 with figures 1 and 2, the following is clearly evident. The effect of hydrogen ion concentration on rate of locomotion in solutions of calcium salts differs greatly from that in solutions of either sodium or potassium salts. Indeed the effect appears to be similar in only a few respects. In the calcium solution just as in the sodium and the potassium solutions there is but one optimum hydrogen ion concentration in reference to rate of locomotion. The rate of locomotion in all three decreased throughout the range of hydrogen ion concentration studied, with increase in salt concentration. This is in accord with the results of Edwards and Forgrave ('23) and Mast and Prosser ('32). In all three solutions as in the solution containing a mixture of salts, the rate of locomotion suddenly dropped to zero at the acid end of the range. This seems to be conditioned merely by the failure to attach.

Some striking differences are evident which indicate in the main that the action of calcium differs qualitatively from that of either sodium or potassium. The variation in the rate of locomotion over the range of hydrogen ion concentrations between pH 5.0 and 8.0 was very much smaller in solutions containing calcium than in those containing either sodium or potassium. This difference is particularly striking in the alkaline range where it will be seen that there was only a slight decrease in the former and a very great decrease in both of the latter. The optimum hydrogen ion concentration, it will be seen, shifted in the calcium solutions from pH 6.8 in 0.001M to pH 7.5 in 0.005M, i.e., with increase in salt

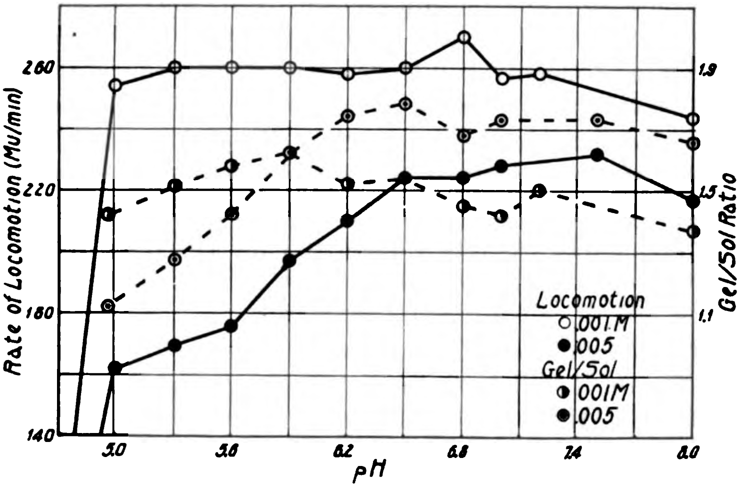


Fig. 3 The relation between rate of locomotion, gel/sol ratio, hydrogen ion concentration and calcium ion concentration. Curve ○, mean rate of locomotion in 0.001M based on measurements on an average of 22.1 different specimens for 111.6. minutes in each hydrogen ion concentration tested; curve ●, mean rate of locomotion in 0.005M based on an average of 18.7 different specimens for a total average of 96.6 minutes in each hydrogen ion concentration tested; curve ◑, mean gel/sol ratio in 0.001M based on measurements on an average of 21.3 different specimens in each hydrogen ion concentration tested; curve ⊙, mean gel/sol ratio in 0.005M based on measurements on a total average of 14.6 different specimens in each hydrogen ion concentration tested.

concentration it shifted in precisely the opposite direction from that which obtained for sodium and potassium respectively. Moreover, the difference in the rate of locomotion in different concentrations is much greater in the acid range than it is in the alkaline range for calcium and precisely the opposite for sodium and potassium, respectively. Furthermore, the gradual increase in rate in calcium 0.005M from zero in acidity above pH 5.0 to a maximum at pH 7.5 finds no counterpart in any of the other solutions used.

By comparing the curves in figures 1, 2, and 3 it will be seen that the maximum average rate of locomotion observed in the three salts considered was highest for potassium (303 μ per minute) and only slightly lower for sodium and calcium (269 and 270 μ per minute respectively), but that the rate was high over a much wider range in the calcium solutions than it was in either the potassium or the sodium solutions.

By referring to figure 3 it can be seen that the gel/sol ratio in calcium 0.001M remained fairly constant throughout the range of hydrogen ion concentration from pH 5.0 to 8.0 paralleling in general the rate of locomotion over this range. This is in marked contrast with the results obtained in either the balanced salt solution or in solutions of sodium or potassium alone for in these solutions there was definite decrease in gel/sol ratio with increased alkalinity of the solution. The difference is even more marked in calcium 0.005M in which there was considerable increase in gel/sol ratio as the hydrogen ion concentration decreased from pH 5.0 to 6.2 after which there was practically no change. It can also be seen that in the sodium solutions the gel/sol ratio was higher in the stronger solution than in the weaker in the more acid range (pH 5.0 to 5.9) and the reverse in the less acid range (pH 5.9 to 6.5), that it was precisely the opposite in the calcium solutions, being lower in the stronger solution in the more acid (pH 5.0 to 5.6) and higher in the weaker solution in the less acid range (pH 5.6 to 8.0), and that in the potassium solutions the results are indefinite owing, doubtless, to the high toxicity of this substance.

Thus it seems that in solutions containing calcium as the only metallic cation, the relation between rate of locomotion, gel/sol ratio, and hydrogen ion concentration is in many respects inverse to that for solutions containing sodium or potassium as the only metallic cation. But that there is no evidence of a specific correlation between gel/sol ratio and rate of locomotion in any of the solutions tested.

These results support the conclusions reached by Mast and Prosser ('32, p. 351) that, "the statement frequently found in the literature that divalent cation salts gelate and monovalent solate is misleading," and that "probably all salts tend to gelate if the concentration is increased and solate if the concentration is decreased." They show that the relation between concentration of both mono- and divalent cations and their action on the consistency of protoplasm is specifically correlated with the hydrogen ion concentration.

THE EFFECT OF ANIONS ON RATE OF LOCOMOTION IN AMOEBA PROTEUS

The question as to whether the variation in rate of locomotion observed in the preceding sections is due to the change in hydrogen ion concentration or to the parallel change in the kind of anions and their ratio was investigated as follows. The rate of locomotion was ascertained in a series sof hydrogen ion concentrations in two solutions, in both of which the sodium concentration was kept constant at 0.005N. In one solution there were only phosphate and hydroxyl anions, while in the other there were phosphate, chloride, and hydroxyl anions. The former solution was prepared as described above; the latter was prepared by mixing in various proportions as acid component containing NaCl 0.004N and NaH_2PO_4 0.001N, with a basic component containing NaCl 0.004N and NaOH 0.001N. Since the total concentration of sodium was 0.005N in both components, no change in sodium ion concentration occurred on mixing. In the latter solution the total concentration of phosphate, the ratio of primary to secondary phosphate, and the ratios of chloride to primary and to secondary phosphate respectively changed with change in hydrogen ion concentration. In the former solution only the total concentration of phosphate and the ratio of primary to secondary phosphate changed. Thus if anions affect the rate of locomotion there should be a difference in the rates observed at corresponding hydrogen ion concentrations in the two solutions. The results obtained are presented in figure 4.

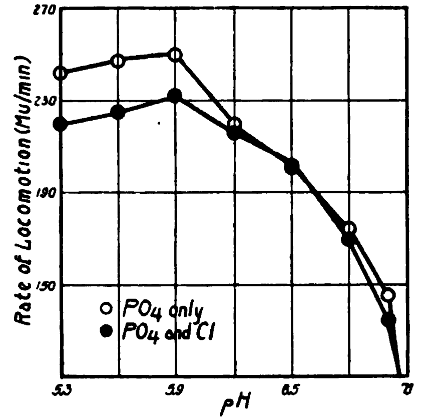


Fig. 4 The effects of anions on rate of locomotion in solutions containing constant sodium ion concentration. Curve ●, mean rates of locomotion in solution containing chloride and phosphate based on measurements on an average of 17.9 different specimens for a total average of 90.9 minutes in each hydrogen ion concentration tested. The curve ○ for the solution containing only phosphate is transferred from figure 1.

It is evident that the two curves in their figure are remarkably similar in form, especially in the range from pH 6.2 to 7.0 where they are almost identical, indicating that over this range the effects on rate of locomotion in the two solutions were practically the same. Between pH 5.3 and 5.9 the curves though paralleling each other closely indicate rates of locomotion somewhat lower for the chloride phosphate solution than for the solution containing phosphate alone. However these observations were made on animals from different cultures. The lack of absolute agreement is therefore probably due to difference in the amoebae rather than to difference in effect of the two solutions. It is concluded from these observations that substitution of chloride for phosphate does not affect the rate of locomotion in Amoeba proteus.

The inference is logical then that alteration of the ratio of primary and secondary phosphate does not in itself affect the rate of locomotion. If this inference is valid then the variation in rate of locomotion considered in the preceding and the following sections may be considered as being independent of changes in the kind or concentration of the anions, at least as far as primary and secondary phosphate and chloride are concerned.

THE EFFECT ON AMOEBA PROTEUS OF PROLONGED EXPOSURE IN VARIOUS SOLUTIONS

The marked decrease in the rate of locomotion in the alkaline and the extreme acid ranges of the single salt solutions of sodium and potassium is striking, and preliminary observations in the more concentrated salt solutions seem to indicate that this is correlated with an effect that continues for a considerable time. The following experiments concern this problem.

Amoebae were washed in redistilled water, selected, and transferred to 0.005N solutions of sodium, potassium, and calcium phosphate buffer solutions at hydrogen ion concentrations ranging from pH 4.2 to 8.0, as previously described. These solutions were identical with those used in the preceding experiments. The dishes containing the amoebae were then sealed with vaseline and set aside for a period of 4 hours. At the end of this time the covers were removed, the solutions withdrawn with a pipette, and Chalkley solution[2] (pH 6.5) poured on and removed with a pipette three times. Then after 1 hour in Chalkley solution, the rate of locomotion of the amoebae was ascertained as described above. As control experiments amoebae taken from the same cultures as those which had been put into the buffer solutions were washed in redistilled water; then within 10 minutes some which had become radiate in form were selected, transferred to Chalkley solution (pH 6.5) and left an hour, after which the rate of locomotion was ascertained; others were left in redistilled water 4 hours, then transferred to Chalkley solution and left for 1 hour, after which the rate of locomotion was ascertained.

---

[2] For composition of Chalkley solution see the preceding paper, p. 451.

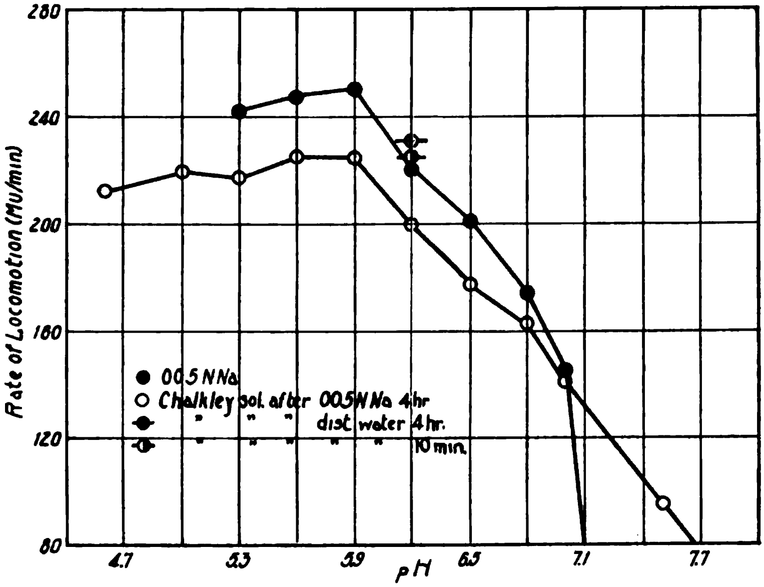


Fig. 5 The effect on rate of locomotion in Chalkley solution, pH 6.5, of prolonged exposure to sodium solutions 0.005N varying in hydrogen ion concentration from pH 4.6 to 8.0 Curve ○, mean rates of locomotion in Chalkley solution, pH 6.5, based on the measurement on an average of 10.1 different specimens for a total average of 48.5 minutes in each hydrogen ion concentration tested. ⊙ and ◑ (two controls), mean rates of locomotion based on measurements of averages of, respectively, 11 and 10 different specimens measured for a total of 52 and 49 minutes, respectively. The curve for locomotion in 0.005N sodium is transferred from figure 1.

By referring to figure 5 the following will be seen: The rate of locomotion in the amoebae which had been in pure water 4 hours and then in Chalkley solution 1 hour was essentially the same as it was in those which had been in pure water only a few minutes and then in Chalkley solution 1 hour, that is, an average of 231 μ per minute for the former and 225 μ per minute for the latter. This shows that exposure to pure water as long as 4 hours does not seriously injure Amoeba proteus, the effect being entirely eliminated by the action of the Chalkley solution for 1 hour.

The rate of locomotion in the amoebae which has been in solutions of sodium 4 hours and then in Chalkley solution 1 hour was, in all tests in which the hydrogen ion concentration of the sodium solution was pH 5.9 or higher, nearly the same as it was in the controls, i. e., in those which had not been subjected to sodium, but it was lower in all in which the hydrogen ion concentration of this solution was lower than pH 5.9; and the lower the hydrogen ion concentration the greater the difference in rate. At the lowest hydrogen ion concentration tested (pH 8.0) the rate was practically zero. Only a few specimens were active at all and all showed signs of disintegration.

By comparing the two curves in figure 5 it will be seen that the effect of 4 hours in solutions of sodium ranging in hydrogen ion concentration from pH 5.9 to pH 4.5 (if there actually is any) is eliminated after 1 hour in Chalkley solution, but that the effect of 4 hours in solutions of sodium which are more alkaline than pH 5.9 is changed only slightly if at all during 1 hour in Chalkley solution. This indicates that in solutions of sodium which are alkaline or only slightly acid the amoebae are definitely injured and that the extent of this injury varies inversely with acidity.

The results obtained on the effect of prolonged exposure to potassium are presented in figure 6. This figure shows that the rate of locomotion in amoebae which had been in solutions of potassium 4 hours and then in Chalkley solution 1 hour was, in the tests in which the hydrogen ion concentration of the potassium solution was pH 5.3, 5.0, and 4.7, nearly normal, that is, nearly the same as it was in the amoebae which had been only a short time in pure water and then 1 hour in Chalkley solution. But that in the tests in which the postassium solution was more acid than pH 4.7 or more alkaline than pH 5.3, the rate was markedly lower, especially in the alkaline range. It shows, however, that practically throughout the entire range the rate was much higher than it was in amoebae which were in potassium solution when the rate was measured (curve ●) even if they had been in this solution only a short time.

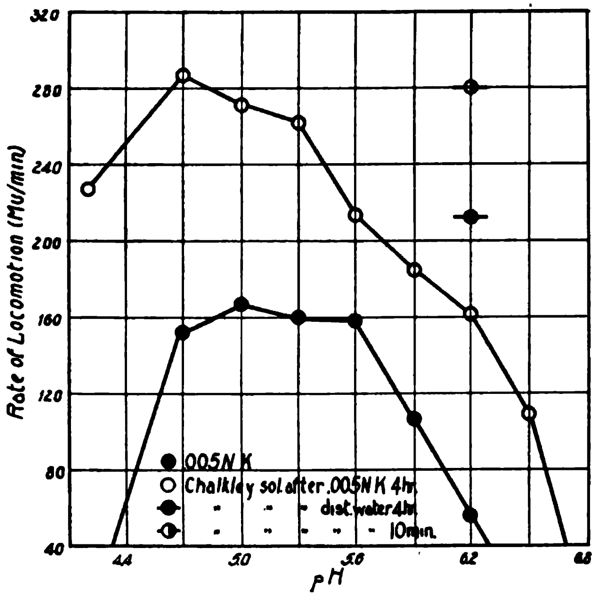


Fig. 6 The effect on rate of locomotion in Chalkley solution, pH 6.5, of prolonged exposure to potassium solutions 0.005N varying in hydrogen ion concentration from pH 4.2 to 7.0. Curve ○, mean rates of locomotion in Chalkley solution pH 6.5, based on the measurement on an average of 16.5 different specimens for a total average of 86 minutes in each hydrogen ion concentration tested. ◑ and ⊙ (two controls), mean rates of 17 and 16 different specimens measured for a total of 89 and 82 minutes, respectively. The curve for locomotion in 0.005N potassium is transferred from figure 3.

This shows that the action of potassium in all hydrogen ion concentrations tested interferes with locomotion, that the effect is drastic in the more alkaline solutions (pH 5.9 to 8.0) and recovery slow, but that recovery is fairly rapid in the more acid solutions (pH 5.3 to 4.7).

It is probable that a part of the retarding effect of potassium on locomotion is due to reduction in adhesiveness of the surface and consequent interference with attachment to the substratum.

The results obtained on the effect of prolonged exposure to calcium are presented in figure 7. This figure shows that the rate of locomotion in amoebae which have been in calcium solutions 4 hours and then in Chalkley solution 1 hour was nearly normal in all tests in which the hydrogen ion concentration of the calcium solution was pH 5.0 or lower,[3] but that it was considerably lower in those in which the calcium solutions were more acid than pH 5.0. By comparing these results with those obtained in observations on the rate of locomotion of amoebae in calcium solution (curve ●) it will be

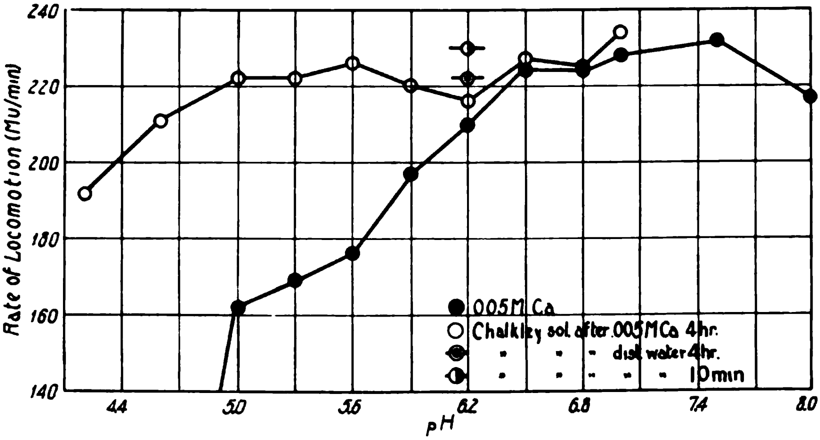


Fig. 7 The effect on rate of locomotion in Chalkley solution, pH 6.5, of prolonged exposure to calcium solutions 0.005N varying in hydrogen ion concentration from pH 4.2 to 7.0. Curve ○, mean rates of locomotion in Chalkley solution, pH 6.5, based on the measurement of an average of 14.9 different specimens for a total average of 72.6 minutes in each hydrogen ion concentration tested. ◑ and ⊙ (two controls), mean rates of 15 different specimens measured for a total of 75 minutes. The curve for locomotion in 0.005M calcium solutions is transferred from figure 4.

---

[3] Owing to the slight solubility of calcium phosphate in solutions more alkaline than pH 7.0, it was necessary to use unbuffered solutions to obtain hydrogen ion concentrations lower than pH 7. However, the hydrogen ion concentration of unbuffered solutions, even though in vaseline sealed dishes, changed so much during the 4-hour period of the experiment that it rendered the results obtained valueless. They are therefore not presented.

seen that the rate of locomotion in the calcium solutions was in all tests in which these solutions were more alkaline than pH 6.0, nearly the same as the rate in amoebae which had been in calcium solutions 4 hours and then in Chalkley solution 1 hour, but that it was much lower in those which were more acid. The results presented consequently show that calcium interferes with locomotion in solutions which are more acid than pH 6.0, but not in solutions which are less acid, and they show that transfer from the calcium solutions to favorable balanced salt solutions results in rapid recovery.

DISCUSSION

Pantin ('26) states that locomotion in a marine limax amoeba does not occur in single isotonic salt solutions of sodium, potassium, or calcium, i.e., that locomotion occurs in sodium or potassium solutions only in the presence of calcium, and in solutions of calcium only in the presence of one of the former. Hopkins ('29) asserts that calcium or strontium is necessary for locomotion of Amoeba proteus in solutions of sodium or potassium salts. Edwards and Forgrave ('23) contend, however, that Amoeba proteus can move in solutions containing only sodium or potassium salts, and Mast ('29), Mast and Hulpieu ('30), and Mast and Prosser ('32) maintain that it can move in solutions containing only sodium, potassium, calcium, or magnesium. That is Pantin and Hopkins hold that a bivalent cation salt is necessary for movement of Amoeba in solutions of monovalent cation salts and vice versa, and the rest of the investigators hold that it is not necessary. The results presented above obviously support the latter view. How then can the results obtained by Pantin and Hopkins be explained?

Pantin, as previously stated, studied a marine limax amoeba and used solutions of various salts isotonic with sea water. Figure 1 of the present paper indicates that if the sodium concentration had been increased until it was isotonic with sea water the hydrogen ion concentration required to permit locomotion in Amoeba proteus would have been so high that it would have prevented locomotion if it did not actually kill the amoebae, i.e., it would have been higher than that which Pantin found inhibited locomotion in marine amoebae. The results presented in figure 3 support this contention for they show that in potassium 0.01N no locomotion was obtained in hydrogen ion concentrations between pH 4.2 and 8.0. This seems to indicate that amoebae which require concentrations of salts isotonic with sea water will not move in solutions containing but one salt. Hopkins maintains that no locomotion occurs in Amoeba proteus in a 0.00678N solution of a sodium or potassium salt, pH 6.6. By referring to figures 1 and 3 it can be seen that this contention is confirmed in reference to potassium but not in reference to sodium, for the curves clearly indicate that locomotion would occur in sodium solution 0.00678N, pH 6.6, but that the rate would be rather low.

The processes involved in the interaction between different salts in relation to gel/sol ratio and rate of locomotion in Amoeba proteus will be considered in the next paper in this series.

SUMMARY

1. As the hydrogen ion concentration decreases the rate of locomotion of Amoeba proteus in solutions containing only sodium, potassium, or calcium salts in various concentrations increases from zero to a maximum and then decreases to zero, that is, there is but one maximum. The relation between rate of locomotion and hydrogen ion concentration in solutions containing but one salt therefore differs radically from that in solutions containing several salts in balanced proportions, in which there usually, if not always, are two maximum rates with a median minimum rate at neutrality.

2. In solutions containing only sodium salts the rate of locomotion in general varies inversely with the concentration and as the concentration increases over the range tested the optimum acidity shifts from pH 6.5 to pH 5.0 and the maximum alkalinity permitting locomotion from pH 8.0 to pH 6.9.

3. In solutions containing only potassium salts the relation between concentration and rate of locomotion is similar to that in solutions containing only sodium salts.

4. In solutions containing only calcium salts the rate of locomotion varies inversely with salt concentration as it does in sodium and potassium solutions but the optimum shifts in the opposite direction and the maximum alkalinity permitting locomotion is much higher.

5. The maximum rate of locomotion observed is highest for potassium and only slightly lower for sodium and calcium solutions, but the rate is high over a much wider range in calcium solutions than it is in either potassium or sodium salt solutions.

6. The rate of locomotion is probably independent of the kind and the concentration of anions.

7. Exposure of amoebae to solutions of single salts for a period of 4 hours causes injury which is not eliminated in a period of 1 hour in a favorable solution. The extent of this injury depends on the hydrogen ion concentration and the specific salt to which the amoebae were exposed. In solutions of sodium or potassium salts, the injury is greatest in the more alkaline solutions; in solutions of calcium salts it is greatest in the more acid solutions. In all three salts there is evidence of some injury in extremely acid solutions. The extent of the injury in any one of the three single salt solutions is thus roughly inversely proportional to the rate of locomotion in that solution.

8. In sodium or potassium solutions the gel/sol ratio (qualitative measure of viscosity) decreases as the hydrogen ion concentration decreases. In calcium solutions it increases in the more acid range (pH 5.0 to 5.9), then remains constant or decreases slightly.

9. In sodium solutions, as the salt concentration increases, the gel/sol ratio increases in the more acid range (pH 5.3 to 5.9) and decreases in the less acid range (pH 5.9 to 6.8). In calcium solutions the reverse obtains. The potassium solutions used are so toxic that the results have little if any comparative value.

10. There is no specific correlation between gel/sol ratio and rate of locomotion in any of the salt solutions tested.

LITERATURE CITED

EDWARDS, J. G., AND H. S. FORGRAVE 1923 The rate of locomotion of amoeba in alkali chlorides. J. H. U. Hosp. Bull., vol. 34, pp. 387-389.

HOPKINS, D. L. 1929 The effects of substratum, divalent and monovalent cations on locomotion in Amoeba proteus. J. Morph. and Physiol., vol. 48, pp. 371-383.

MAST, S, O. 1929 Mechanics of locomotion in Amoeba proteus, with special reference to the factors involved in attachment to the substratum. Protoplasma, vol. 8, pp. 344-377.

MAST, S. O., AND H. R. HULPIEU 1930 Variation in the response to light in Amoeba proteus with special reference to effect of salts and hydrogen ion concentration. Protoplasma, vol. 11, pp. 312-431.

MAST, S. O., AND C. L. PROSSER 1932 Effect of temperature, salts, and hydrogen ion concentration on rupture of the plasmagel sheet, Rate of locomotion, and gel/sol ratio in Amoeba proteus. J. Comp. and Cell. Physiol., vol. 1, pp. 333-354.

PANTIN, C. F. A. 1926 On the physiology of amoeboid movement. III and IV. The action of calcium and magnesium. Brit. J. Exp. Biol., vol. 3, pp. 275-311.

PITTS, R. F. 1933 The relation between rate of locomotion and form in Amoeba proteus. Biol. Bull., vol. 64, pp. 418-423.

PITTS, R. F., AND S. O. MAST, 1933 The relation between inorganic salt concentration, hydrogen ion concentration and physiological processes in Amoeba proteus. I. Rate of locomotion, gel/sol ratio, and hydrogen ion concentration in balanced salt solutions. J. Cell. and Comp. Physiol., vol. 3, pp. 449-462.

Pitts, R. F.
+ Mast, S. O.
1934.

⑥

Pitts, Robert Franklin, and Samuel Ottmar Mast

1934. The relation between inorganic salt concentration, hydrogen ion concentration and physiological processes in Amoeba proteus

III. The interaction between salts (antagonism) in relation to hydrogen ion concentration and salt concentration

J. Cell. & Comp. Physiol., v. 4, no. 4, June 20

Physiology { experimental
ion action

Amoeba proteus

Movement, amoeboid—effect of ions on

THE WISTAR INSTITUTE PRESS
Philadelphia, Pa., U.S.A.

Reprinted from the JOURNAL OF CELLULAR AND COMPARATIVE PHYSIOLOGY
Vol. 4, No. 4, June, 1934

THE RELATION BETWEEN INORGANIC SALT CONCENTRATION, HYDROGEN ION CONCENTRATION AND PHYSIOLOGICAL PROCESSES IN AMOEBA PROTEUS

III. THE INTERACTION BETWEEN SALTS (ANTAGONISM) IN RELATION TO HYDROGEN ION CONCENTRATION AND SALT CONCENTRATION

R. F. PITTS AND S. O. MAST
Zoölogical Laboratory, The Johns Hopkins University

SEVEN FIGURES

(Received for publication January 31, 1934)

INTRODUCTION

Since the discovery by Ringer (1882) of antagonism between calcium and sodium or potassium salts in their action on the frog's heart, the problem has been intensively investigated in reference to various physiological processes in many organisms. There have been, however, no extensive observations made on the relation between hydrogen ion concentration, salt concentration and antagonism between different salts. The following experiments concern primarily this relation.

THE RELATION BETWEEN HYDROGEN ION CONCENTRATION AND ANTAGONISM BETWEEN SALTS

Sodium and calcium

Observations were made on the rate of locomotion and the gel/sol ratio in Amoeba proteus in solutions containing sodium and calcium in hydrogen ion concentrations varying from pH 4.2 to 8.0. The solutions used were prepared by making two stocks, one containing primary sodium phosphate 0.005N and calcium chloride 0.001M, the other containing sodium hydroxide 0.005N and calcium chloride 0.001M, and mixing the two stocks in varying proportion to obtain solutions of the desired hydrogen ion concentration. All of the solutions obviously contained the same concentration of sodium and calcium. The observations were made as described in the preceding papers. The results obtained are presented in figure 1. For details concerning individual variation in the rate of locomotion of Amoeba proteus see table 2 in the first paper in this series.

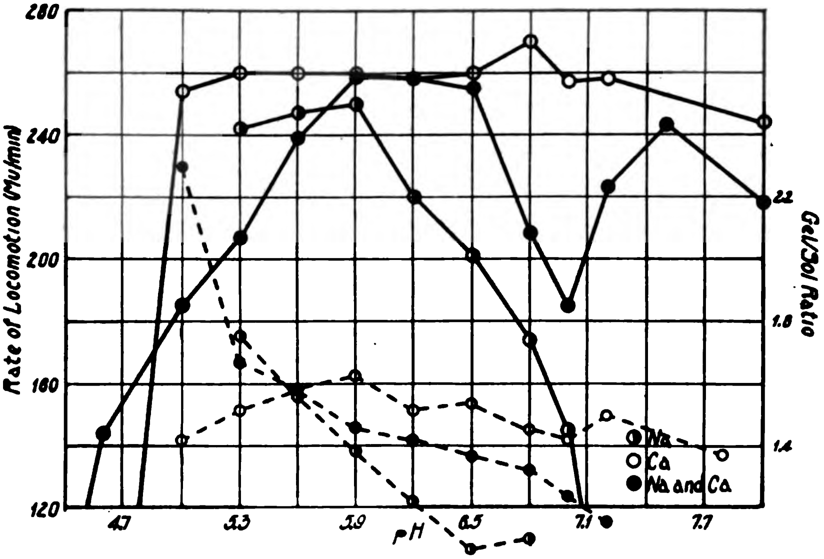


Fig. 1 Antagonism between 0.005N sodium and 0.001M calcium. Solid line, rate of locomotion; broken line, gel/sol ratio. The solid curve for the solution containing sodium and calcium is based on the measurement of the rate of locomotion on an average of 14.75 specimens for a total average of 89.9 minutes in each hydrogen ion concentration tested. The solid curves for sodium and calcium, respectively, were transferred from the preceding paper, figures 1 and 3. The broken curve for the solution containing sodium and calcium is based on the measurement of an average of 19.8 different specimens in each hydrogen-ion concentration tested. The broken curves for sodium and calcium were transferred from the preceding paper, figures 1 and 3.

Figure 1, curve ●, shows that as the hydrogen ion concentration of the solutions containing sodium and calcium salts decreased, the rate of locomotion increased rapidly to a maximum at about pH 6.2, then decreased sharply to a median minimum at pH 7.0, after which it increased to a secondary maximum at pH 7.5, then decreased again. It also shows that in solutions more alkaline than pH 6.2 the rate for the mixture of calcium and sodium was between the rate for calcium alone (curve ○) and the rate for sodium alone (curve ◑).

This indicates that if the solution is more alkaline than pH 6.2 the addition of calcium to sodium solutions causes increase and the addition of sodium to calcium solutions decrease in rate of locomotion, and that increase in hydrogen ion concentration over this range caused very marked increase in rate of locomotion in sodium solutions, but only slight increase if any in calcium solutions. It is consequently evident that addition of calcium to sodium solutions has the same effect as increasing the hydrogen ion concentration and addition of sodium to calcium solution the same effect as decreasing the hydrogen ion concentration. However, examination of the curves in figure 1 shows at once that the magnitude of the effect of changes in the hydrogen ion concentration is not uniform over the entire range considered. For example, it shows that the addition of calcium to sodium solutions has relatively very much greater effect at pH 7.5 than it has at pH 7.0. The cause of this is not obvious.

The figure shows also that in hydrogen ion concentrations higher than pH 5.9, addition of either calcium to sodium solution or sodium to calcium solution causes very marked decrease in rate of locomotion; and that increase in hydrogen ion concentration from pH 5.9 to 5.3 causes only very slight decrease in rate of locomotion in sodium solution and no change in rate of locomotion in calcium solution. This indicates that over this range the effect of increase in hydrogen ion concentration on rate of locomotion in calcium solution and sodium solution, respectively, is the same in direction, in so far as there is any effect, but that it is not nearly so great as the effect of addition of calcium to sodium or sodium to calcium salt solution.

The conclusion is drawn that calcium and sodium are antagonistic in their effects on rate of locomotion in hydrogen ion concentrations between pH 6.2 and 8.0, and the opposite in hydrogen ion concentrations between pH 6.2 and 4.6, and that the relative extent of the interaction varies greatly with the hydrogen ion concentration.

Figure 1 shows that as the hydrogen ion concentration of the mixture of sodium and calcium decreased the gel/sol ratio decreased, at first rapidly and then more slowly and steadily, and that the gel/sol ratio in the mixture was intermediate for the most part of the range between that in the sodium and the calcium solutions, respectively, though more closely approximating that in sodium so far as the form of the curve is concerned. Thus antagonism between sodium and calcium as concerns gel/sol ratio is not as evident as antagonism in relation to rate of locomotion, for the relation between gel/sol ratio and hydrogen ion concentration in the sodium solution and in the mixture are very similar though the gel/sol ratios differ somewhat in magnitude. It is evident, however, that these relations for both solutions are different from that observed in the calcium solution.

Potassium and calcium

Observations were made on the relation between hydrogen ion concentration, rate of locomotion, and gel/sol ratio in solutions containing potassium 0.005N and calcium 0.001M in hydrogen ion concentrations varying from pH 4.2 to 8.0. The solutions used were the same as those used in the preceding experiments except that potassium phosphate and hydroxide replaced the corresponding sodium salts. The methods of observation were the same. The results obtained are presented in figure 2.

By comparing figure 2 with figure 1 it can be seen that the results obtained with mixtures of potassium and calcium are similar to those obtained with mixtures of sodium and calcium, the only striking difference being that the rate of locomotion between pH 6.2 and 4.6[1] changed very much more gradually in the potassium calcium mixture than in the sodium calcium mixture. By comparing the rates of locomotion at corresponding hydrogen ion concentrations in the potassium

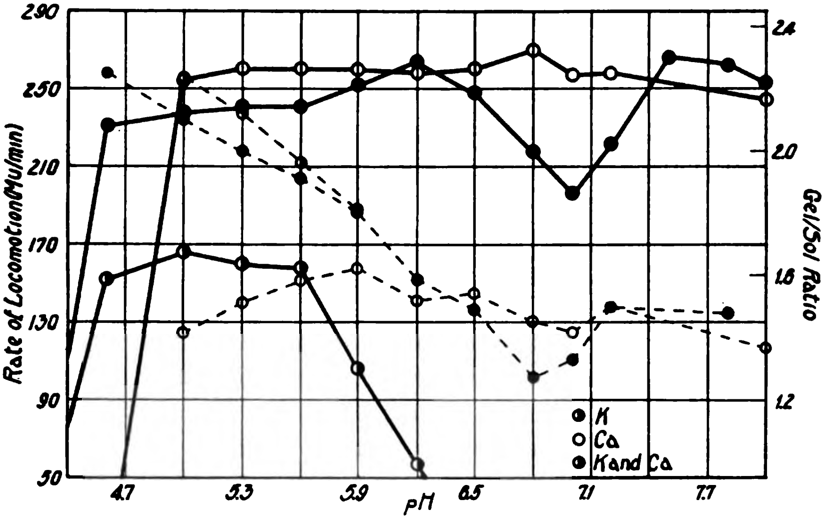


Fig. 2 Antagonism between 0.005N potassium and 0.001M calcium. Solid line, rate of locomotion; broken line, gel/sol ratio. The solid curve for the solution containing potassium and calcium is based on the measurement of the rate of locomotion on an average of 20.5 specimens for a total average of 104.6 minutes in each hydrogen ion concentration tested. The broken curves for potassium and calcium, respectively, were transferred from the preceding paper, figures 2 and 3. The broken curve for the solution containing potassium and calcium is based on the measurement of an average of twenty different specimens in each hydrogen ion concentration tested. The broken curves for potassium and calcium, respectively, were transferred from the preceding paper, figures 2 and 3.

solution, the calcium solution, and the mixture of potassium and calcium, it will be seen that addition of calcium to potassium not only markedly increased the rate of locomotion throughout the range, but, of equal importance that it extended it far into the alkaline region.

---

[1] The sudden decrease to zero at pH 4.6 was probably due in great part to failure of the amoebae to attach in strongly acid solution.

This shows that calcium 0.001M very effectively antagonizes the effects of potassium 0.005N throughout the entire range of hydrogen ion concentrations between pH 4.6 and 8.0. The antagonism between potassium and calcium appears to be greater, especially in the range from pH 4.6 to 5.6 than the antagonisms between sodium and calcium. The form of the curves shows, however, that the extent of the antagonism varies greatly with hydrogen ion concentration.

It will also be seen that the variation of gel/sol ratio with hydrogen ion concentration in the potassium calcium mixture is similar to that observed in the sodium calcium mixture, with the exception that the rise in gel/sol ratio at pH 7.2 in the former was not observed in the latter mixture. Figure 2 shows that the gel/sol ratio is slightly lower for the mixture of potassium and calcium than for potassium alone, yet considerably higher throughout most of the range than for calcium.' It also shows that the antagonism between potassium and calcium in reference to gel/sol ratio varies greatly with hydrogen ion concentration and that it is not so evident as it is in reference to rate of locomotion.

Sodium and potassium

Observations were made on the relation between hydrogen ion concentration and rate of locomotion in solutions containing sodium and potassium in hydrogen ion concentrations ranging from pH 4.2 to 8.0. The solutions used were made by mixing sodium and potassium phosphate buffers as described above. The observations were made the same as those in the preceding experiments. The results obtained are presented in figures 3 and 4.

Figure 3 shows that the relation between rate of locomotion hydrogen ion concentration in solutions containing potassium 0.005N and sodium 0.001N is essentially the same as that obtained with potassium 0.005N alone. This indicates that there is no antagonism between potassium 0.005N and sodium 0.001N in reference to rate of locomotion.

Figure 4 shows that the relation between hydrogen ion concentration and rate of locomotion in solutions containing sodium 0.005N and potassium 0.001N is similar to that obtained in sodium 0.005N alone with the exception that the optimum is somewhat more acid and the rates on the alkaline side of the optimum are uniformly lower in the mixture than in the sodium solution alone. Thus it seems that the addition of potassium 0.001N to sodium 0.005N produces an effect on the relation between hydrogen ion concentration and rate of locomotion very similar to an increase in sodium or potassium ion concentration. This indicates that there is no antagonism between sodium 0.005N and potassium 0.001N in reference to rate of locomotion in Amoeba.

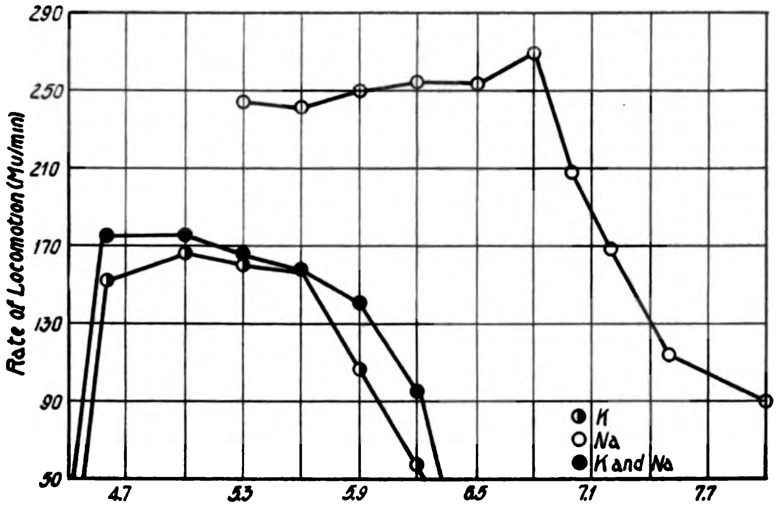


Fig. 3 Antagonism between 0.001N sodium and 0.005N potassium in reference to rate of locomotion. The curve for the solution containing sodium and potassium is based on the measurement of the rate of locomotion on an average of 12.8 specimens for a total average of 70.7 minutes in each hydrogen ion concentration tested. The curves for potassium and sodium, respectively, were transferred from the preceding paper, figures 1 and 2.

Magnesium and potassium or sodium

Observations on the relation between hydrogen ion concentration and rate of locomotion in solutions containing sodium and magnesium and potassium and magnesium were made as described above. The results obtained are presented in figure 5.

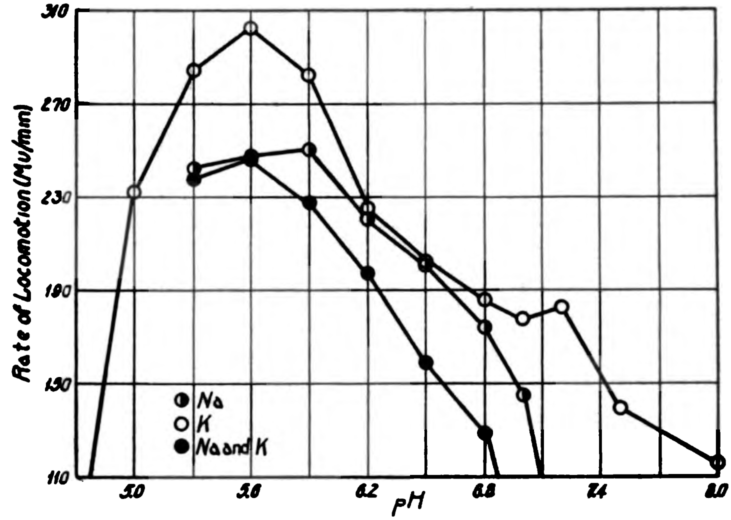


Fig. 4 Antagonism between 0.001N potassium and 0.005N sodium in reference to rate of locomotion. The curve for the solution containing sodium and potassium is based on the measurement of the rate of locomotion on an average of 17.2 specimens for a total average of 86.5 minutes in each hydrogen ion concentration tested. The curves for sodium and potassium, respectively, were transferred from the preceding paper, figures 1 and 2.

Figure 5 shows clearly that the curves describing the variation in rate of locomotion with hydrogen ion concentration in solutions of sodium 0.005N and solutions containing sodium 0.005N and magnesium 0.001N are practically identical; and that the same is true in reference to potassium and a mixture of potassium and magnesium. Thus it may be concluded that magnesium does not (at least in the concentration used) appreciably antagonize the effects of sodium or potassium on the rate of locomotion in Amoeba.

This is conclusive proof that the marked antagonistic action of calcium on rate of locomotion in solutions of the alkali metals is not a function of its valency but rather a specific property of calcium.

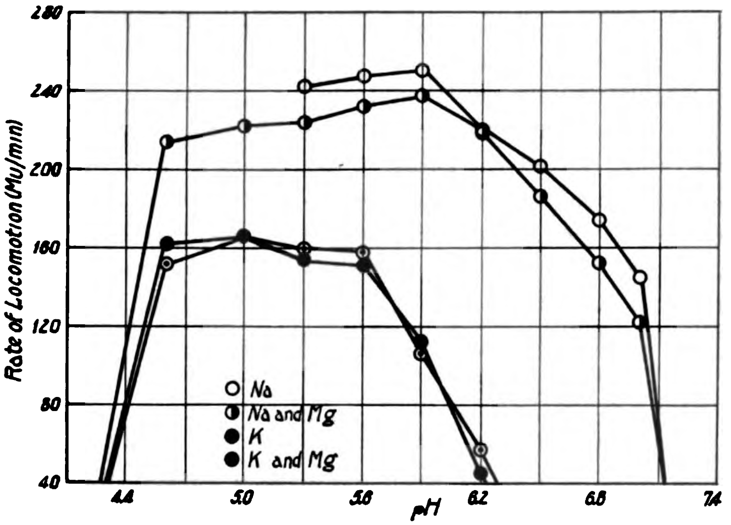


Fig. 5 Antagonism between 0.001N magnesium and, respectively, 0.005N sodium and 0.005N potassium in reference to rate of locomotion. The curve for the solution containing sodium and magnesium is based on the measurement of the rate of locomotion on an average of 14.9 specimens for a total average of 76 minutes in each hydrogen ion concentration tested; and the curve for the solution containing potassium and magnesium on the measurement of the rate of locomotion on an average of 13.5 specimens for a total average of 70 minutes in each hydrogen ion concentration tested. The curves for sodium and potassium, respectively, were transferred from the preceding paper, figures 1 and 2.

RELATION BETWEEN HYDROGEN ION CONCENTRATION AND THE EFFECT OF VARIATION IN THE PROPORTION OF DIFFERENT SALTS AND IN SALT CONCENTRATION ON ANTAGONISM BETWEEN SALTS

Hopkins ('26) and Mast and Prosser ('32) observed that Amoeba proteus is very much less active in neutral solutions than in solutions which are either slightly acid or slightly alkaline. Mast and Prosser maintain, however, that this does not obtain if the salt content of the solution is low and they conclude that the relative inactivity in neutral solutions is correlated with the concentration of the salts in the solution.

In the preceding papers of this series we presented results which are in harmony with those presented by Hopkins and Mast and Prosser, but we found that they obtain only for balanced salt solutions and solutions which contain calcium and sodium or potassium, that they do not obtain for solutions which contain only sodium or potassium or calcium salts, or magnesium and sodium or potassium salts. These results indicate that the relative inactivity at neutrality in the former solutions is in some way correlated with the interaction between calcium and sodium or potassium. We, however, also obtained some evidence which indicates that the decrease in activity is not so great in strong as it is in weak salt solutions, that is, that it is correlated with salt concentration but in the reverse direction from that maintained by Mast and Prosser.

In order to obtain more information concerning this problem two sets of experiments were performed as follows: 1) The rate of locomotion and the gel/sol ratio were ascertained in three series of solutions all with constant sodium ion concentration, 0.005N, but with calcium concentrations 0.001M, 0.0005M and 0.0001M, respectively. 2) The rate of locomotion and the gel/sol ratio were ascertained in three series of solutions all with constant calcium concentration, 0.0005M, but with the sodium ion concentration, 0.010N, 0.005N and 0.001N, respectively. The observations in both sets of experiments were made in the same way as those in the preceding sections. The results obtained are presented in figures 6 and 7.

The curves in figure 6 clearly indicate that the relation between hydrogen ion concentration and rate of locomotion in the three solutions containing the three different sodium/calcium ratios produced by changing the calcium concentration is essentially the same throughout the whole range of hydrogen ion concentrations except in the region of neutrality, and that in this region, the higher the calcium concentration or the lower the sodium/calcium ratio, the lower the rate of locomotion resulting in a median minimum rate which becomes more pronounced as the concentration of calcium increases. The curves in figure 7 indicate the same in reference to the three solutions containing the three different sodium/

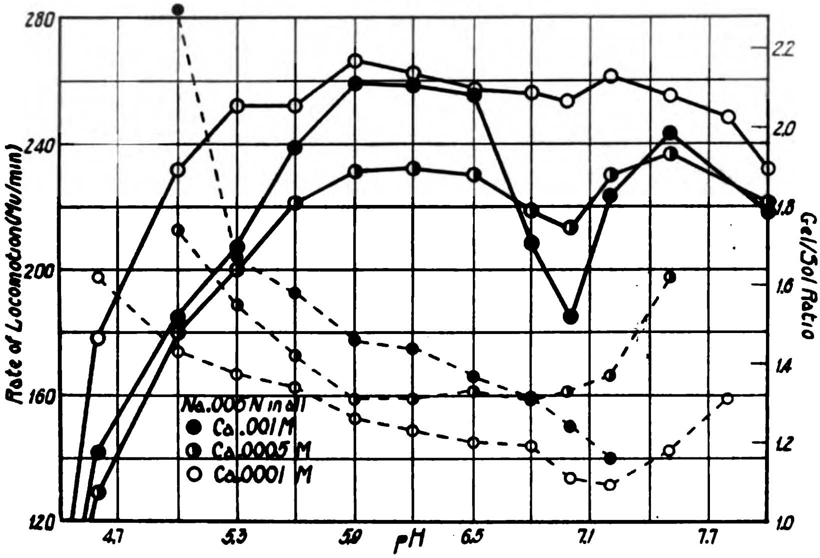


Fig. 6 The effect of adding calcium in different concentrations to 0.005N sodium solutions, on the relation between hydrogen ion concentration, rate of locomotion and gel/sol ratio. The solid curve for the solutions containing calcium 0.001M is based on measurement of the rate of locomotion, on an average of 14.75 different specimens for a total average of 89.9 minutes; that for calcium 0.0005M on an average of 18.6 different specimens for a total average of 95 minutes; and that for calcium 0.001M on an average of 20.5 different specimens for a total average of 104.6 minutes in each hydrogen ion concentration tested. The broken curve for the solution containing calcium 0.001M is based on measurement of the gel/sol ratio, on an average on 19.8 different specimens; that for calcium 0.0005M on an average of 17.9 different specimens; and that for calcium 0.0001M on an average of twenty different specimens in each hydrogen ion concentration tested.

calcium ratios produced by changing the sodium concentrations.

The results obtained in both experiments therefore show that, within the limits of the concentrations used, the lower the sodium/calcium ratio the lower the rate of locomotion at neutrality and the greater the difference between this rate and the rates obtained at the optimum hydrogen ion concentration in alkaline and acid solutions, respectively. This together with the fact that no indication of reduction in rate

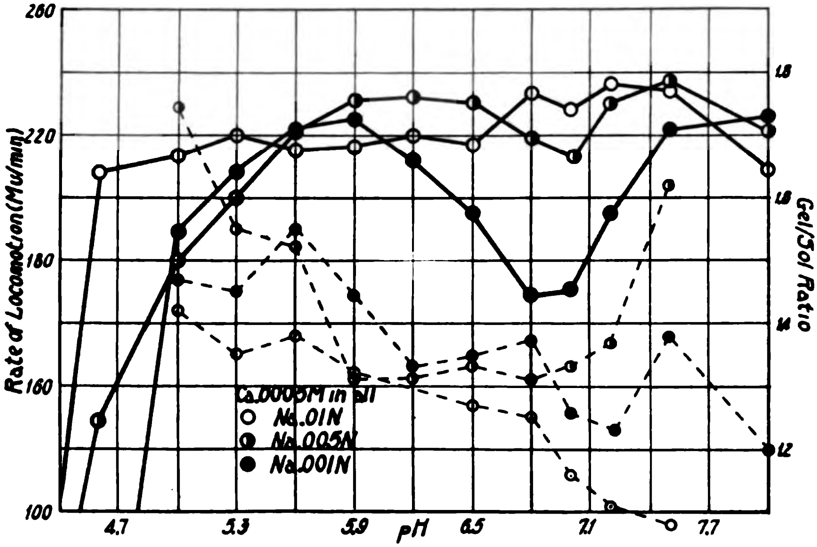


Fig. 7 The effect of adding sodium in different concentrations to 0.0005M calcium solutions, on the relation between hydrogen ion concentration and rate of locomotion. The solid curve for the solution containing sodium 0.01N is based on measurement of the rate of locomotion, on an average of 19.0 different specimens for a total average of 95.8 minutes; that for sodium 0.005N on an average of 18.6 different specimens for a total average of 95 minutes; and that for sodium 0.001N on an average of 18.9 different specimens for a total average of 95.6 minutes in each hydrogen ion concentration tested. The broken curve for the solution containing sodium 0.01N is based on measurement of the gel/sol ratio, on an average of 16.6 different specimens; that for sodium 0.005N on an average of 17.9 different specimens; and that for sodium 0.001N on an average of 18.4 different specimens in each hydrogen ion concentration tested.

of locomotion at neutrality was observed in solutions containing either of these salts alone proves conclusively that the relative inactivity observed in Amoeba proteus at neutrality is specifically correlated with the relation between the quantities of sodium and calcium salts present. This, of course, does not exclude the possibility of correlation with the total salt concentration of such a nature as to eliminate the median minimum rate at neutrality in weak solutions in accord with the views of Mast and Prosser and also in strong solutions in accord with the results presented in the first paper in this series.

Figure 6 shows that the gel/sol ratio increases consistently with increase in hydrogen ion concentration, and it clearly indicates that in the hydrogen ion concentrations tested the more calcium present, i.e., the lower the sodium/calcium ratio, the higher the gel/sol ratio. The indicated increase in gel/sol ratio in the alkaline range is doubtless due to an error in measurement, owing to the accumulation of fluid under the plasmalemma and the consequent abnormal thickening of the hyaline layer as described in the preceding paper.

The results presented in figure 7 also indicate that the gel/sol ratio increases with decrease in the sodium/calcium ratio, but that those obtained in the two highest ratios are confused in some hydrogen ion concentrations. It is, however, clear that the gel/sol ratio in the lowest sodium/calcium ratio was throughout the whole range of hydrogen ion concentration tested, higher than the gel/sol ratio in the highest sodium/calcium ratio, in spite of the fact that the salt concentration was lower in the former than in the latter. The increase in total salt concentration would in itself tend to produce the reverse relations in the gel/sol ratio. This shows very clearly that the gel/sol ratio is more intimately correlated with the sodium/calcium ratio than with the salt concentration.

DISCUSSION

Gel/sol ratio

The evidence presented in the three papers of this series indicates the following in reference to the gel/sol ratio in Amoeba proteus:

In balanced salt solutions, in solutions containing sodium and calcium salts or potassium and calcium salts, and in solutions containing only sodium or potassium salts the gel/sol ratio, in general, varies directly with hydrogen ion concentration.[2] In solutions containing only calcium it is practically independent of hydrogen ion concentration in the more dilute solutions, and probably varies inversely with the hydrogen ion concentration in the more concentrated solutions. In solutions containing calcium and sodium or potassium it is, in general, intermediate between what it is in solutions containing these salts singly.

The results presented in figures 5 and 6, paper III, indicate that the gel-sol ratio varies directly with the calcium/sodium ratio. This variation may, however, have been due to the change in total salt concentration that accompanied the change in the calcium/sodium ratio.

In balanced salt solution the gel/sol ratio varies directly with the salt concentration throughout the entire range of hydrogen ion concentration tested. In solutions of single salts the relation between gel/sol ratio and concentration is not definitely established. The results presented in figures 1 and 3, paper II, indicate that in solutions containing only calcium salts the gel/sol ratio varies directly with the salt concentration in the more acid range (pH 5 to 5.9) and inversely in the more alkaline range; and that in solutions containing only sodium salts the reverse obtains, i.e., that it varies indirectly with the salt concentration in the more acid range (pH 5 to 5.9) and directly in the more alkaline range (pH 5.9 to 6.5). There was, however, so much variability in these results that their significance is questionable.

It is obvious that a substance in the environment may influence processes which occur in a cell either by entering the cell and acting directly on substances in the cell, or by acting on the surface of the cell in such a way as to retard or facilitate the passage into or out of the cell of other substances which, owing to their presence or absence, induce alterations in internal processes.

[2] Some of the curves indicate inverse variation in the more alkaline solutions of these salts. It must, however, again be emphasized as in paper II, that in alkaline solutions and in toxic salt solutions in general, structural changes occurred which invalidate the results obtained in the measurement of the gel/sol ratio.

It may be assumed, then, either, 1) that the gel/sol ratio depends upon the entrance of salts into the cell and reaction between these and internal substances, and that the rate of entrance of salts varies with the hydrogen ion concentration; or, 2) that the gel/sol ratio varies with the rate of entrance of hydrogen and hydroxyl ions into the cell and reaction between these and internal substances, and that the rate of entrance of these ions varies with the concentration of the salts and the hydrogen ions; or, 3) that the gel/sol ratio depends upon the exit of substances from the cell, e.g., water, and that this depends upon the hydrogen ion concentration, and the salt concentration and the kinds of salts present. Let us now attempt to ascertain if the processes in question are in accord with any of these groups of assumptions.

If they are in accord with the first of these assumptions, the gel/sol ratio must vary directly or indirectly with the amount of salt that enters the cell and this must vary directly or indirectly with the hydrogen ion concentration. If it varies indirectly with the amount of salt that enters and this varies either directly or indirectly with the hydrogen ion concentration practically none of the results obtained are in accord with the assumptions. If it varies directly with the amount of salt that enters and this varies directly with the hydrogen ion concentration the results obtained with balanced salt solutions and some others are in full accord with the assumptions; but the assumption that the entrance of salts varies directly with hydrogen ion concentration is not in harmony with the results obtained by practically all who have investigated this problem. Moreover, the assumptions do not account for the independence or inverse variation between hydrogen ion concentration and gel/sol ratio in calcium solutions.

If they are in accord with the second of the three assumptions made above, the gel-sol ratio must depend upon the hydrogen ion concentration within the cell and this must vary with the concentration of the salts and the hydrogen ions in the surrounding medium. If it varies indirectly with the hydrogen ion concentration of the surrounding medium and directly or indirectly with the salt concentration, few if any of the results obtained are in accord with the assumptions. If it varies directly with the hydrogen ion concentration and the salt concentration of the surrounding medium, the results obtained with balanced salt solutions and some others are in accord with the assumptions, but those obtained with calcium solutions are not. There is, moreover, no evidence which indicates that the hydrogen ion within Amoeba varies appreciably with variation in the hydrogen ion and the salt concentrations of the surrounding medium (Chambers, '28).

In accord with the third group of assumptions, the gel/sol ratio must vary with the rate of exit of substances from the cell, and this must vary directly or indirectly with the salt and the hydrogen ion concentration, and it must also vary with the kind of salts present in the environment. Without entering upon a detailed analysis of the correlation between these assumptions and the results under consideration, it is evident that, no matter what combination is selected, there are between them and the results inconsistencies of the same nature as those presented above.

It is consequently obvious that the results in hand cannot be consistently explained by any one of the three groups of assumptions made, and that there must be a fairly complicated interaction between the various factors involved. If this is true, the statement, without qualification, that any given factor facilitates gelation or solation is obviously so incomplete that it is without value. This conclusion is in full harmony with that reached by Mast and Prosser ('32).

Rate of locomotion

In reference to the relations between rate of locomotion and kind of salts, salt concentration and hydrogen ion concentration, the results obtained are, on the basis of any one of the groups of assumptions considered above, even less explicable than are those in reference to the gel/sol ratio. The outstanding difficulty here concerns the remarkable decrease in rate of locomotion as neutrality is approached either from the acid or from the alkaline side. The results presented show that this decrease occurs in balanced salt solutions; that it is specifically correlated with the Na/Ca or the K/Ca ratio; that the higher this ratio within the limits of the concentrations tested, the greater the decrease; and that it does not occur in solutions containing only one salt, or in solutions containing only sodium and potassium salts, or magnesium and sodium or potassium salts.

The results show that if calcium is added to a solution containing only sodium salts, the rate of locomotion in the alkaline range increases greatly, with but little change in the acid range and in the region of neutrality; and that if sodium is added to solutions containing calcium salts, the rate decreases greatly in the region of neutrality, with but little change elsewhere.

The questions now arise as to why addition of calcium to solutions containing only sodium salts causes great increase in rate of locomotion in the alkaline range, and why addition of sodium to solutions containing only calcium salts causes great decrease in the rate in the region of neutrality.

Similar questions have arisen in reference to the bimodal curves obtained by a number of other investigators in plotting the rate of various physiological processes against hydrogen ion concentration, e.g., by Robbins ('23) and Farr ('28) in various processes in plants; by Ephrussi and Neukomm ('27) in the resistance to heat in the eggs of a sea urchin; by Hopkins ('28) in the rate of locomotion in Amoeba; by Mast ('28) in the rate of assumption of stellate forms in Amoeba; by Eisenberg-Hamburg ('29) in the rate of increase in water content in Infusoria; by Chalkley ('29) in water content and gel/sol ratio in Amoeba; by Chalkey ('30) in thermal death rate in Paramecium; by Chase and Glazer ('30) in rate of locomotion in Paramecium; and by Mast and Prosser ('32) in rate of locomotion in Amoeba.

Only a few of these investigators attempted to elucidate the phenomenon, Mast and Prosser ('32), as previously stated, concluded that it is correlated with salt concentration.

We have already considered this view. Robbins ('23) contends that the hydrogen ion concentration, at which the median minimum in the plant processes studied occurs, coincides with the isoelectric point of the principal proteins in the plant. Farr ('28) maintains, however, that this view is not tenable. He found in observations on the relation between hydrogen ion concentration and rate of growth in root hairs of collards that the hydrogen ion concentration at which the median minimum occurs varies greatly with salt concentration and he concludes that it therefore cannot be specifically correlated with the isoelectric point of any given protein in the organism.

In reference to Amoeba, the constancy of a median minimum rate of locomotion at pH 7.0 in various solutions indicates some fixity of mechanism determining this median minimum. This mechanism might be correlated with the behavior of the membrane in the neighborhood of an ampholyte isoelectric point near neutrality in accord with the view of Robbins ('23). But arguing against such an isoelectric point are the pertinent facts that, 1) the median minimum is lacking in solutions of single salts, though locomotion in the dilute solutions occurs at hydrogen ion concentrations in which it is usually found; 2) the difference between the maximum and the median minimum rate of locomotion depends on the sodium/calcium ratio and only slightly if at all on the total salt concentration; 3) the cations have marked effect on the rate of locomotion on the acid side of the neutral point as well as on the alkaline side; 4) the anions (so far as chloride and phosphate are concerned) have little effect down as far in the acid range as the observations were made.

We are at present unable to suggest a satisfactory explanation for this median minimum. Whatever the cause of it may be, the relation between the rate of locomotion in Amoeba and the factors in its environment is doubtless fairly complex, for it is probable that these factors influence locomotion in it by their action on the surface, affecting adhesiveness and other properties of the surface, as well as by their action on permeability of the surface membrane (Mast, '26).

SUMMARY

1. There is antagonism between calcium and sodium or potassium salts in reference to the effect on rate of locomotion and gel/sol ratio in Amoeba proteus but it varies greatly with the hydrogen ion concentration.

2. There is no antagonism between sodium and potassium salts or between magnesium and sodium or potassium salts.

3. The rate of locomotion in potassium salt solutions is in all hydrogen ion concentrations tested, increased by the addition of calcium, but the increase is much greater in solutions which are more alkaline than pH 5.6 than in those which are more acid than this, and the increase is not uniform in the more alkaline range. As the alkalinity increases from pH 5.6 the magnitude of the increase in rate increases to a maximum at pH 6.2, then decreases sharply to a minimum at pH 7.0 after which it increases sharply again.

4. The effect of addition of calcium on the rate of locomotion in sodium salt solution is similar to the effect of the addition of calcium to potassium salts except in hydrogen ion concentrations above pH 5.9 in which it actually causes decrease in rate of locomotion.

5. The effect of addition of calcium on the gel/sol ratio in sodium or potassium salt solutions varies greatly with the hydrogen ion concentration but there is no such marked change in the magnitude of this effect in the region of neutrality as there is in the effect on rate of locomotion.

6. In solutions containing calcium and sodium or potassium there is a median minimum rate of locomotion at neutrality and two maximum rates, one at pH 6.2 and one at pH 7.5, that is, the curve expressing the relation between hydrogen ion concentration and rate of locomotion in these solutions is bimodal.

7. In solutions containing only sodium, potassium, or calcium salts or only magnesium and sodium or potassium salts there is no median minimum rate of locomotion and the curves expressing the relation between rate of locomotion and hydrogen ion concentration are not bimodal.

8. The greater the concentration of calcium in relation to the concentration of sodium, that is, the lower the sodium/calcium ratio, within the limits tested, the greater the difference between the maximum and the median minimum rates of locomotion. The relative inactivity of Amoeba proteus at neutrality is therefore closely correlated with the sodium/calcium ratio of the solution and doubtless also with the potassium/calcium ratio. It is probably also to some extent correlated with the total salt concentration.

9. Why the effect of addition of calcium on rate of locomotion in sodium or potassium solutions is so strikingly different in neutral solutions from what it is in those which are either acid or alkaline is not clear.

10. The gel/sol ratio in solutions containing sodium and calcium varies indirectly with the sodium/calcium ratio throughout the entire range of hydrogen ion concentration tested, and it varies directly with the hydrogen ion concentration. The curves expressing these relations are not bimodal. There is no marked change in the gel/sol ratio at neutrality.

LITERATURE CITED

CHALKLEY, H. W. 1929 Changes in water content in Amoeba in relation to changes in its protoplasmic structure. Physiol. Zoöl., vol. 2, pp. 535–574.

——— 1930 Resistance of Paramoecium to heat as affected by changes in hydrogen-ion concentration and in inorganic salt balance in the surrounding medium. U. S. Public Health Repts., vol. 45, pp. 481–489.

——— 1930 On the relation between resistance to heat and the mechanism of death in Paramoecium. Physiol. Zoöl.. vol. 3, pp. 425–440.

CHAMBERS, R. 1928 Intracellular hydrion concentration studies. I. The relation of the environment to the pH of the cytoplasm and of its inclusion bodies. Biol. Bull., vol. 55, pp. 369–376.

CHASE, A., AND O. GLAZER 1930 Forward movement of Paramoecium as a function of the hydrogen-ion concentration. J. Gen. Physiol., vol. 13, pp. 627–636.

EISENBERG-HAMBURG, E. 1929 Recherches comparatives sur le fonctionnement de la vacuole pulsatile chez les infusoires parasites de la grenouille et chez les infusions d'eau douce. Influence de la pression osmotique, des electrolytes et du pH. Arch. f. Protistenkunde, Bd. 78, S. 251–270.

EPHRUSSI, BORIS AND ALAX. NEUKOMM 1927 Résistance à la chaleur des oeufs d'oursin (Paracentrotus lividus, Lk.). Protoplasma, Bd. 2, S. 34–44.

FARR, C. H. 1928 Studies on the growth of root hairs in solutions. IV. The pH molar rate relation for collards in calcium chloride. Am. J. Bot., vol. 15, pp. 6–31.

HEILBRUNN, L. V. 1928 The colloid chemistry of protoplasm. Berlin.

HOPKINS, D. L. 1926 The effect of hydrogen-ion concentration on locomotion and other life processes in Amoeba proteus. Proc. Nat. Acad. Sci., vol. 12, pp. 311–315.

——— 1928 The effects of certain physical and chemical factors on locomotion and other life processes in Amoeba proteus. J. Morph. and Physiol., vol. 45, pp. 97–119.

MAST, S. O. 1923 Mechanics of locomotion in Amoeba. Proc. Nat. Acad. Sci., vol. 9, pp. 258–261.

——— 1926 Structure, movement, locomotion, and stimulation in Amoeba. J. Morph. and Physiol., vol. 41, pp. 347–425.

——— 1928 Factors involved in changes in form in Amoeba. J. Exp. Zoöl., vol. 51, pp. 97–120.

MAST, S. O., AND C. L. PROSSER 1932 Effect of temperature, salts, and hydrogen-ion concentration on rupture of the plasmagel sheet, rate of locomotion, and gel/sol ratio in Amoeba proteus. J. Cell. and Comp. Physiol., vol. 1, pp. 333–354.

PITTS, R. F., AND S. O. MAST 1933 I. Rate of locomotion, gel/sol ratio, and hydrogen ion concentration in balanced salt solutions. J. Cell. and Comp. Physiol., vol. 3, pp. 449–462.

——— 1934 II. Rate of locomotion, gel/sol ratio, and hydrogen ion concentration in solutions of single salts. J. Cell. and Comp. Physiol., vol. 4, pp. 237–256.

[illegible] L. [illegible] M.

(7)

THE GREGARINES OF GLYCERA SIPHONOSTOMA.

By HELEN L. M. PIXELL-GOODRICH, D.Sc.

Reprinted from 'The Quarterly Journal of Microscopical Science,'
Vol. 61, Part 3, March, 1916.

Parasitic Pro

The Gregarines of Glycera siphonostoma.

By
Helen L. M. Pixell-Goodrich, D.Sc.,
Beit Memorial Research Fellow.

With Plate 18.

THE large Polychaet, Glycera siphonostoma D. Ch. (sometimes placed in a separate genus Rhynchobolus), is at times infested with numerous gregarines, both intestinal and cœlomic. On this account it is somewhat difficult to differentiate the stages in the life-history of anyone of them. Out of fifty-two specimens examined at Naples in March and April, 1914, twelve (I to IX, XII, XIV, and XXVI) were infected with a species of Gonospora which presented some interesting points. The affinities of this form with previously established species will be discussed later. It does not agree in detail with the published account of any, notwithstanding the fact that Léger (11) has already recorded Gonospora sparsa as occurring in some undetermined species of Glycera at Belle Isle.

A specimen of Gl. siphonostoma infected with Gonospora can generally be detected in the living, for, through its body-wall, both the large attached trophozoites and free cysts can be distinguished. The latter move backwards and forwards suspended in the cœlomic fluid, as the host expands and contracts. The large trophozoites are attached to the thick muscular pharynx from the region of the jaws to the intestine (Pl. 18, fig. 1). The numbers and size of the individual parasites vary very much in different specimens. Sometimes only one or two occur, but in the case illustrated (VI) they were numerous towards the posterior half of the pharynx. In another (IX) a fringe of trophozoites was found just in front of the jaws. The length of the single trophozoites varies from about 1 mm. to 4 or 5 mm. in length. Narrow at the attached end, they gradually widen out, and then taper to a blunt point. The smallest specimen shown in Pl. 18, fig. 1, is at *e*. The small projections at *f* were thought to be possibly young forms, but on cutting sections of this part they were discovered to be only the remains of the attached ends of associates which had become free. The nucleus is spherical and near the widest part of each individual; it contains generally four or five caryosomes (Plate 18, fig. 4). Each of the parasites is covered with a layer of the host's cœlomic epithelium, thicker in some parts than in others. It seems clear, as will be further explained later, that the parasites of a certain length, having reached the cœlom, attach themselves to the pharynx. Thereupon they penetrate a little into the host's tissue, and the peritoneum, greatly increasing in the neighbourhood, rapidly grows round the parasite, forming a layer in contact with, but not attached to, the exterior cuticle of the gregarine. This covering of host's cells does not keep pace with the growth of the trophozoite, which consequently has to become bent on itself to some extent, especially at its narrow attached end (Plate 18, fig. 4).

The trophozoites evidently revolve to a certain extent about their points of attachment, and in this way the free extremities of two forms may come together as at *a* and *b* (Pl. 18, fig. 1), when association proceeds to take place. The layer of host tissue is eliminated from between the contiguous extremities, and the end of one associate projects into the end of the other, which consequently becomes cup-shaped, and thus union of the two associates is made secure (Pl. 18, figs. 2 and 3). This dove-tail arrangement reminds one very forcibly of the cup and ball structure described by Huxley (**10**) in Ganymedes, and I would suggest that in this gregarine also the distinctive ends, which the author states he could not always find, were probably only temporary forms taken on by the parasites at the beginning of association. That is at any rate the case here. Before association all the parasites have regularly tapering ends. A somewhat similar mode of association of two or several individuals was described by Caullery and Mesnil (**3**) in Gonospora longissima, where they state that the extremity of one associate sometimes forces itself into the other, invaginating it "en doigt de gant." They compare this with the similar phenomenon in the Didymophyes of Stein. In this polycystid gregarine, however, it is the satellite which attaches itself to the primite of a syzygy in this way (**17**, Taf. IX, fig. 40), and therefore necessarily the attachment is by opposite ends. In the Gonospora from Gl. siphonostoma it is union of similar ends that is affected in this secure way. Following this association the pair continue to rotate, and since the proximal ends are still attached to the pharynx they become much convoluted and shortened (Pl. 18, figs. 2 and 3). It would have been interesting to see what would have happened during shortening of the attached ends in the case of the associates in Pl. 18, fig. 1, marked *a* and *b*, which, it will be seen, have become intertwined. In Pl. 18, fig. 2, is shown a case of attempted triple association. Evidently after the firm union of two specimens a third has become attached, and is seeking to come into closer relation, though as yet separated by much host tissue. In normal cases the associated ends gradually enlarge and become rounded off, forming a spherical cyst, into which is drawn up most of the protoplasm from the attached ends. A little, however, may be left with its covering of host tissue outside the cyst, as in Kalpidorhynchus[1] (**7**). The cuticle of the trophozoite may be seen to be closely ribbed by examining the ball end of an associate. After formation of the cyst the cup and ball arrangement disappears and the thin partition between the gametocytes becomes straightened out, the remaining cuticle thickening slightly to form the cyst wall. Meanwhile the covering provided by the host forms a thick wall round the associates, and its proximal parts shorten and thicken, but continue to attach the spherical cyst to the pharynx for some time. There is no organic connection between parasite and host cyst. The latter may easily be removed at any time (Pl. 18, fig. 3).

---

[1] The correct generic name of this parasite is discussed on p. 213.

During the changes recorded above nuclear division has been proceeding in each gametocyte. The stage showing the first nuclear division has not been seen. It would take place in a couple at a stage between those represented in Pl. 18, fig. 1, by *a* and *b* on the one hand, and *c* on the other. For in the pair of associates *a* and *b* there were only the trophozoite nuclei in each, while in *c* there were several nuclei which were still dividing. Here it may be mentioned that although all these nuclei appear similar, there is at this early stage a much greater number in one associate than in the other. A similar observation is recorded by Cunningham (7, p. 205) in the case of his Kalpidorhynchus arenicolæ, namely, that one gametocyte has fewer nuclei than the other. This difference is here at any rate only transitory, for at the stage represented by *d* (Pl. 18, fig. 1) there seems to be the same number of nuclei in each gametocyte; and there is still no difference to be distinguished in the size or appearance of the nuclei of the two gametocytes. However, Brasil (1) stated that in G. varia the difference in appearance of the nuclei of the two gametocytes only appeared distinctly on the passage of the nuclei to the surface formed by their convolutions (1, p. 31). Unfortunately these later stages are wanting among my cysts. Both the formation and fusion of the gametes appear to be gone through rapidly at the time when the cyst breaks away from the pharnyx and becomes free in the cœlom. The youngest of these cysts obtained free in the cœlom still had processes at either side where the host's cyst had broken off from the short stumps *f* (Pl. 18, fig. 1) left attached to the pharynx. This cyst contained, besides some residual protoplasm, numerous young spores each with an undivided syncaryon (Pl. 18, fig. 5). Two older cysts containing ripe spores had become completely spherical, showing no signs of having been attached. Round these the host cells formed a colourless layer of uniform thickness.

SPORES.

The spore is provided with a very characteristic wall composed of endospore and exospore, and having a funnel at one end (Pl. 18, fig. 6). The exospore is thick and transparent, and is supported by processes running through it from the endospore. Similar, though longer, processes run up and support the sides of the funnel. The appearance of the latter is evidently what has given rise to the general statement that in Gonospora the spore is terminated by a crown of spines —"couronne de fines pointes hyalines," Léger (**11**, p. 156) and Brasil (**1**, p. 20). When unstained, or washed out, the endospore and its processes are refringent, but they can be shown up much more clearly by overstaining with iron-hæmatoxylin. The endospore measures about 10 μ by 8 μ. The exospore is very delicate and easily overlooked unless the illumination is very good. The processes of the endospore enlarge slightly towards their outer ends, sometimes appearing to have globular extremities. They might almost be minute canals, out of which a sticky fluid was oozing. At any rate, granules in the neighbourhood adhere easily to them. Ripe spores contain eight sporozoites, which escape through the funnel. The thickness of the fully-formed spore-coat makes it difficult for reagents to penetrate it and stain the contents (Pl. 18, fig. 6).

Only on the one occasion, cited above, were cysts with ripe spores found free in the cavity, and those had evidently only just become detached from the pharynx. In all other cases such cysts were embedded in brown masses composed of host phagocytes. Their brown colour was due to granules and other waste products removed from the cœlom. These masses were sometimes very large, one, in specimen VI, was 9 mm. long by 1 mm. wide, and contained embedded in it about a dozen cysts with ripe spores. More usually they measured less than 2 or 3 mm. in any direction; sometimes they contained small trophozoites in addition to spores, at other times necrotic Nematodes and their eggs, and very often old broken setæ. They give, in fact, evidence of the very effective way in which the host is destroying its parasites together with other useless matter. The ultimate destruction of these masses in Glycera siphonostoma has been described by Goodrich (**9**, p. 450), as taking place in the nephridial sacs. Much has been written also on general phagocytic action of the leucocytes of annelids, and destruction of parasites by them has been described by Siedlicki (**15**), Cuenot (**5** and **6**), Caullery and Mesnil (**2**), and others. I am unable, however, to find any recorded instance of phagocytes having to attack a layer of their own host's tissue in order to reach their quarry. In Gl. siphonostoma they appear to attack first any free foreign bodies, and it is only after dealing effectively with these that an onslaught is made on attached forms. The attacking phagocytes can easily be distinguished from the covering cells of ordinary cœlomic epithelium by their larger size, branching character, and brown colour due to enclosed granules. In one specimen (IX) a brown mass free in the cœlom was found to contain four trophozoites and four cysts, all in a necrotic condition. The only other parasites were three or four small trophozoites attached quite close to the jaws. Two of these were being held together laterally by a mass of phagocytes with the usual brown granules. These two trophozoites, in spite of their covering of colourless host cells, were evidently in process of being detached from the pharynx and destined to ultimate destruction by phagocytes. This is the only sign of anything like lateral association that I have been able to observe in this form, and of course here it is really nothing of the kind, but merely a case of two small trophozoites being conveniently destroyed at the same time by the host. Léger, however, described lateral association in G. sparsa, a form found by him in Glycera sp. This makes me hesitate to connect this parasite from Gl. siphonostoma with that from other Glycerids until such time as it may be possible to compare the living forms. To prevent confusion, therefore, it is perhaps well to refer to the form under consideration as G. glyceræ.

SYSTEMATIC POSITION OF GONOSPORA GLYCERÆ N.SP.

The genus Gonospora was established by Schneider (**14**, p. 597) in 1875 to include a species found by him in "Audouinia lamarkii at Roscoff and also in Terebellids." The trophozoite of this form is described as elongated, broader at one end than the other and the spores as oval, without processes. This would appear to be not unlike Léger's G. varia from Audouinia (see below). Unfortunately Schneider called this species G. terebellæ Köll., although he stated immediately after that he dared not affirm that his species was the same as Kölliker's Gregarina (Monocystis) terebellæ. If, however, the description and figure of the latter given by Kölliker (**10a**, fig. 6) be studied it will be clear that this form should be included in the genus Selenidium. This fact has already been pointed out by Dogiel (**8**) in his interesting work on the gregarines.

On the whole, then, it seems reasonably clear that the type species on which Schneider founded the genus Gonospora was the one subsequently named G. varia by Léger in 1892. The chief known characteristics of this and the other two species hitherto described (all apparently forms free in the cœlom) may be summed up as follows:

(1) G. varia, Léger, from the cœlom of Audouinia (**11**, p. 157), further described by Brasil (**1**, p. 21). Trophozoites may be 2 mm. long; association terminal; gametes anisogamous; spores oval, 18 to 21 μ long.

(2) G. sparsa, Léger, from the cœlom of Phyllodoce and Glycera sp. (**11**). Trophozoites elongated, attaining a length of 1 mm.; association lateral; spores 10 μ long, nearly spherical with "couronne de pointes hyalines."

(3) G. longissima C. and M. (**2** and **3**) from cœlom of Dodecaceria. Trophozoites very large; association terminal and intimate; spore apparently oval (not clearly figured).

In none of the above cases, I venture to think, has the spore been studied at a sufficiently high magnification to reveal its true characteristics. Dogiel (8) has recorded the existence of a funnel, and it seems possible that there may also be found a more complicated coat than has been described. In the meanwhile it may be pointed out that the spore of the species from Gl. siphonostoma in size and shape much resembles G. sparsa; but for the present its distinguishing characteristics may be summarised as follows:

(4) G. glyceræ n. sp. from the cœlom of Glycera siphonostoma D. Ch. Trophozoites attached to pharynx during the greater part of their life and covered with a layer of the host's cœlomic epithelium; association terminal and made secure by a dovetail arrangement; spores with a refringent endospore which gives off processes supporting the thick transparent exospore with its funnel.

In addition to Gonospora several other gregarines have been found in Gl. siphonostoma which have not been shown to have any connection with it. A few observations, however, on these may be of assistance to anyone who should have a chance of obtaining this polychæte at Naples and wish to continue the study of the parasites. I have not been able to obtain any living specimen since leaving Naples, and equally unsuccessful have been efforts to obtain from the British coasts Gl. gigantea, Quatrefages, which McIntosh (12) maintains is the same species.

(1) Cystobia intestinalis Ssok. was obtained in three specimens (namely, IV, XXII, and LII). This parasite was described by Ssokoloff (16) from specimens occurring in a preserved intestine of a Gl. siphonostoma (Rhynchobolus) which he received from Naples. In this case the whole of the sporogony is described as taking place in the intestinal wall. In my specimen of Gl. siphonostoma with the best infection, while there are numerous trophozoites single or associated in the intestinal wall (Pl. 18, fig. 7), there are also very many free. Among these the only pair of associates found in which nuclear division has started is free in the

lumen. Unfortunately no later stages are represented at all, so that I am unable to confirm the account given by Ssokoloff from his somewhat inadequate material. This author does not refer to the peculiar dense meshwork of the ectoplasm which contains small deeply staining granules, although it can be distinguished in one of his micro-photographs.

In his classification (p. 227) Ssokoloff has omitted C. minchinii, established by Woodcock (**18**) as a species occurring in Cucumaria, but has included the badly-defined C. schneideri Ming., which was stated by Cuenot (**4**, p. 4), so early as 1892, to be identical with C. holothuriæ. He has also included Cunningham's Kalpidorhynchus arenicolæ among Cystobia, as advocated by Dogiel (**8**).[1]

(2) Another gregarine occurring abundantly in at least three specimens (II, VIII, and XXIV) of Gl. siphono-

---

[1] That this last parasite is a monocystid Gregarine is quite clear from an examination of specimens which can easily be found in Arenicola ecaudata at Plymouth. Since it does not undergo neogamy (i.e. precocious association, Woodcock (**18**)), it should be included in the genus Gonospora rather than in Cystobia. The same is probably true of the parasite under consideration called Cystobia intestinalis by Ssokoloff, but its life history requires confirmation.

The characteristics of the spores of Gregarines are much more important, from a systematic point of view, than such details in their life history as the manner of association (whether terminal or lateral), or the time at which it takes place (whether neogamous or normal). I cannot, therefore, agree with Woodcock as to the necessity of the genera Diplodina (Woodcock, 1906), and Cystobia (Ming., 1891), in which, with one exception mentioned below, the spores are practically identical with those of Gonospora. The occurrence of neogamy, though of much interest, is not of systematic value. Woodcock himself points out that this condition is developed to a varying extent even in a single species, viz. Diplodina irregularis (**18**, pp. 60 and 63), and also that the condition occurs to some extent in other genera such as Diplocystis, Zygocystis (pp. 62 and 63). This being the case it seems preferable to place the two species of Diplodina, viz. D. (Cystobia) irregularis and D. (Cystobia) minchinii, in the genus Gonospora, and Cystobia holothuriæ (the spore of which is provided with a short flattened tail as well as a funnel) in the genus Lithocystis (**13a**). Woodcock (**18**, p. 60) fully realised that such were their relationships.

stoma is a cœlomic form always seen in pairs (Pl. 18, fig. 8). These are generally very much smaller than the Gonospora trophozoites attached to the pharynx, and have no apparent relationship with them. Specimens measured varied between ·2 and 1·6 mm. in length and were never more than 1 mm. wide. They were attached to the body-wall, retractor muscles, or intestinal wall, never to the pharnyx. The two individuals of a pair are held together and attached to the host by a homogeneous secretion (Pl. 18, fig. 8, *m*), which extends between them for about one third of their length from the attached extremities. The cuticle is thin and the protoplasm finely granular. The large, oval nucleus varies in position, but is generally nearer the distal end; it is limited by a well-marked membrane and sometimes contains a couple of caryosomes.

Presumably this form has no more connection with C. intestinalis than with Gonospora glyceræ, and I merely make these few observations in case they may be of use in subsequent investigations.

(3) In two specimens (II and IV) free or attached monocystid gregarines were found in the intestine, especially towards the posterior end. There was nothing especially characteristic about these, and it is unlikely that they should have any connection with the previously described forms.

(4) In one specimen (III) small active gregarines were found in the anterior region of the intestine. These were probably the sporozoites of one of the above forms, although no spores were seen.

Summary.

(1) There appear to be four different gregarines parasitic in Gl. siphonostoma, including at least one species of Gonospora.

(2) Gonospora glyceræ n. sp. is surrounded throughout the greater part of its existence by a layer of host epithelium. Association is made secure by means of a dovetail arrangement. The spores, under a high magnification, reveal a more

complicated structure than has previously been described in the genus.

THE MUSEUMS, OXFORD;
July 16th, 1915.

LITERATURE.

1. Brasil, L.—"Recherches sur la Reproduction des Grégarines Monocystidées," 'Arch. Zool. Expér.,' 4me s., iii, 1905.

2. Caullery M., and Mesnil, F.—"Les formes épitoques et l'évolution des Cirratuliens, G. longissima of Dodecaceria," 'Annales de Universitié de Lyon,' xxxix, p. 86, 1898.

3. ——— ——— "Sur une Grégarine cœlomique nouvelle," 'C. R. Ac. Sci.,' cxxvi, p. 262, 1898.

4. Cuénot, L.—"Commensaux et Parasites des Echinodermes," 'Revue Biol. du Nord de la France,' v, pp. 1–23, 1892.

5. ——— "Étude physiologique sur les Orthoptères," 'Arch. de Biol. xiv, pp. 293–343, 1895.

6. ——— "Les globules sanguins et les organes lymphoides des Invertébrés," 'Arch. d'Anat. microsc.,' i, 1897.

7. Cunningham, J. T.—"Kalpidorhynchus arenicolæ," 'Arch. Protistenk.,' p. 199, 1907.

8. Dogiel, V.—"Beiträge zur Kenntniss der Gregarinen. iii, Ueber die Sporocysten der Cölom-Monocystideæ," 'Arch. Protistenk.,' xvi, pp. 194–208, 1909.

9. Goodrich, E. S.—"On the Nephridia of Polychæta. i, Glycera and Goniada," 'Quart. Journ. Micr. Sci.,' 43, 1898.

10. Huxley, J. S.—"On Ganymedes anaspidis," ibid., 55, pp. 155–177, 1910.

10a. Kölliker, A.—"Gregarinen," 'Zeits. wiss. Zool.,' i, 1848.

11. Léger, L.—"Recherches sur les Grégarines," 'Tablettes zoologiques,' iii, 1892.

12. McIntosh. W. C.—'Monogr. Brit. Annelids,' II, ii, p. 482.

13. Mingazzini.—"Le Gregarine delle Oloturie," 'Rendic. R. Accad. dei Lincei,' vii, p. 313, 1891.

13a. Pixell-Goodrich, H.—"The Sporozoa of Spatangoids," 'Quart. Journ. Micr. Sci.,' 61, 1915.

14. Schneider, A.—"Contributions à l'histoire des Grégarines," 'Arch. Zool. Expér.,' iv, p. 597, 1875.

15. Siedlecki, M.—"Quelques observations sur le role des amibocytes dans le cœlome d'un annelide," 'Ann. de l'Institute Pasteur,' xvii, pp. 449–462, 1903.

16. Ssokoloff, B.—"Cystobia intestinalis, nov. sp.," Arch. Protistenk., xxxii, pp. 221–228, 1914.

17. Stein, F.—"Ueber die Natur der Gregarinen," 'Arch. Anat. Physiol. Med., Berlin,' p. 184, 1848.

18. Woodcock, H. M.—"The Life-Cycle of Cystobia irregularis Minch.,' 'Quart. Journ. Micr. Sci.,' 50, p. 1, 1906.

EXPLANATION OF PLATE 18,

Illustrating Mrs. Helen L. M. Pixell-Goodrich's paper on "The Gregarines of Glycera siphonostoma."

(All preparations, unless otherwise stated, were stained with iron-hæmatoxylin and drawn with the aid of a camera lucida.)

Fig. 1.—Posterior region of pharynx of Glycera siphonostoma showing attachment of single and associated Gonospora. *a*, *b*, *c*, *d*, pairs of associates in order of development; *e*, young trophozoite; *f*, remains of attached ends left by liberated cysts. Drawn after fixation in corrosive acetic mixture. × 8.

Fig. 2.—Optical section of distal ends of two associates, *a* and *b*, showing intimate union between them, and a third specimen, *c*, attempting to effect multiple association. Stained iron-hæmatoxylin. × 23.

Fig. 3.—A pair of associates slightly compressed, after removal of envelope of host cells. Drawn from the living. × 23.

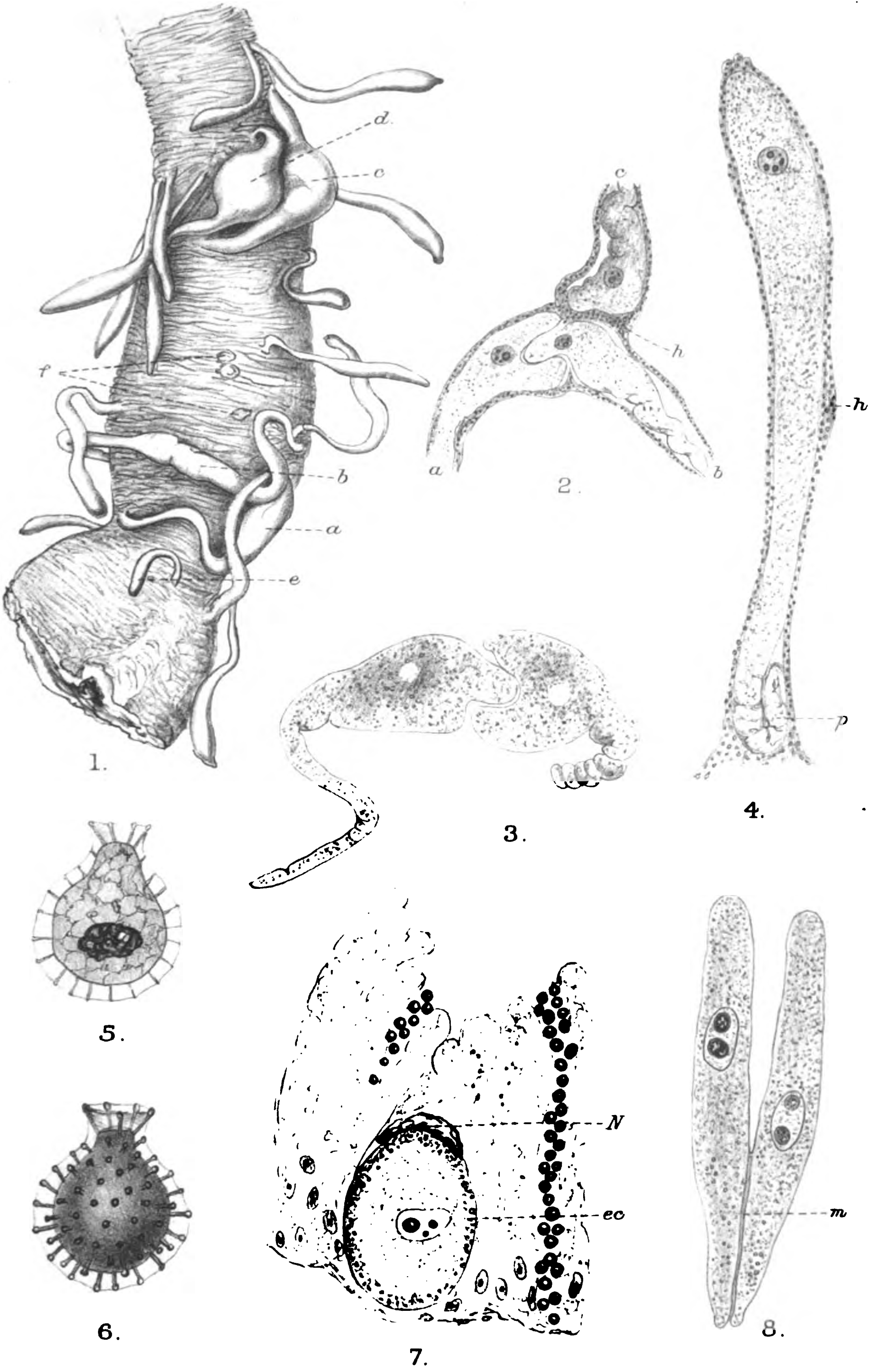
Fig. 4.—Optical section of a single trophozoite, after being detached from pharynx, showing small nucleus with several caryosomes. *h*, Covering of host's cells; *p*, proximal end bent on itself. × 75.

Fig. 5.—Optical section of young spore, with characteristic coat just formed. The nucleus (syncaryon) starting to divide, but much overstained. × 2000.

Fig. 6.—Ripe spore showing characteristic endospore with processes, faintly staining exospore, and funnel supported by slightly longer processes. × 2000.

Fig. 7.—Cystobia intestinalis Ssok. Section through trophozoite at base of intestinal cells. *n*. Remains of hypertrophied nucleus of host cell. *ec*, Dense ectoplasm with deeply staining granules. × 500.

Fig. 8.—A pair of cœlomic gregarines held together by a structureless membrane (*m*), extending to nearly half their length from the attached ends. × 250.



H.M. Pixell-Goodrich del
Huth, Lith^r London

PIXELL-GOODRICH — GREGARINES OF GLYCERA.

ll- Goodrich, H.L.M.
15

⑧

MINCHINIA: A HAPLOSPORIDIAN.

By HELEN L. M. PIXELL-GOODRICH, B.Sc., Beit Memorial Research Fellow.

[*From the* Proceedings of the Zoological Society of London, 1915.]
[Published September 1915.]

Parasitic Prot

Paras Prot

C

[*From the* PROCEEDINGS OF THE ZOOLOGICAL SOCIETY OF LONDON, 1915.]
[Published September 1915.]

Minchinia: A Haplosporidian.

By HELEN L. M. PIXELL-GOODRICH, B.Sc., Beit Memorial Research Fellow *.

(Plates I. & II.†)

The genus *Minchinia* (Labbé) undoubtedly belongs to the Haplosporidia, although it has invariably been placed among the Coccidia. Schaudinn (**17**, p. 276) went so far as to include the genus in that of *Adelea*, and in this he was followed, tentatively only, by Doflein (**7**, p. 744).

Minchinia chitonis Lankester is the only well-established species; other so-called species will be dealt with later. This parasite was first recorded so long ago as 1885 by Lankester (**11**, fig. 12), who found it in the liver of *Chiton* and gave a drawing of the spore under the name of *Klossia chitonis*. Labbé (**9**) examined the same parasite in 1896, and, recognising its distinctive characteristics, made it the type species of a new genus, which he named *Minchinia* in honour of Prof. Minchin. The spore has a thick chitinous coat and an outer membranous envelope produced into a long tail at either end.

In 1897 Léger (**13**) described a new Coccidian *Barroussia caudata* whose spore was said to be provided with a long tail at one of its poles, though, so far as I can make out, it has never been figured. In a subsequent communication Léger (**14**, p. 7 footnote) pointed out that this form, parasitic in *Lithobius martini*, had affinities with *Minchinia*, though he did not recommend connecting the two forms. In spite of this, Labbé in 1899 (**10**) included this species of *Barroussia* in his new genus as *Minchinia caudata*. In 1898 Léger (**15**) described the flagellated microgamete belonging to this species, which is undoubtedly Coccidian in type. Therefore *Barroussia caudata*, a true Coccidian, is no longer to be included in the genus *Minchinia*.

Patella and *Trochus* were also given by Labbé as hosts of *Minchinia*, although he seemed undecided whether or not these contained the same species as *Chiton*. No figures of these parasites were given except one of a trophozoite from *Patella* which appears to be Coccidian in character. Therefore it seems likely that this *Patella* parasite may also turn out to have no relationship with *Minchinia*. The specimens of *Patella* and *Trochus* that I have examined have not been infected at all, although some specimens have been taken from exactly the same locality as infected *Chiton*.

---

* Communicated by the SECRETARY.

† For explanation of the Plates see p. 456.

Paras Prot

OCCURRENCE OF *MINCHINIA* IN *CHITON*.

During the last four or five years I have searched Chiton from Plymouth and other parts of the British coast, as well as from parts of the Pacific and Mediterranean, for traces of this parasite, and it was only in October last that specimens of Chiton at Plymouth were found to be strongly infected. The species of Chiton so parasitised was *Craspedochilus cinereus* (Linn.)* from Rum Bay, not *Acanthochites* (*Chiton*) *fascicularis* (Linn.), stated by Labbé to be the host at Roscoff. In fact the latter species I have never found to be infected. From this locality, out of 135 specimens of *Craspedochilus cinereus* examined, 85 have had a more or less advanced infection. This proportion of infected specimens, roughly two-thirds, does not coincide with Labbé's description of *Minchinia* as a rare parasite. However, these figures only refer to specimens of *Craspedochilus cinereus* from a small stretch of coast near Plymouth called Rum Bay. Perhaps the best ground for the collection of Chiton in the Plymouth district is the mouth of the river Yealm; here, however, the specimens are small only, and out of twenty-five not a single one has been found to be infected with *Minchinia*. Chiton (two only) examined from Wembury Bay have also been free from infection.

The infection is thus shown to be very localised; whether the Chiton in Rum Bay are suffering from an epidemic of this parasite, or whether *Minchinia* is endemic to this locality, could only be determined by an investigation extending over several years.

The parasites have so far only been recorded from the liver; they are, however, not restricted to this organ, but later overrun all the connective tissue. They are especially numerous between the lobes of the liver and the interior projections of the walls of the so-called sugar-glands (Zuckerdrüsen). Infection then spreads to the wall of the gonad, radula sac, gills, and blood-spaces in the foot. Cases of advanced infection can nearly always be detected without dissection, because cysts full of spores can be seen in the gills and through the epidermis of the foot.

In such favourable positions, lying immersed in the host's blood, the parasite has every opportunity of nourishing itself, and during its rapid endogenous multiplication the liver becomes gradually deprived of its reserve food materials. In early cases of severe infection the presence of numerous colourless plasmodia and young cysts gives a white appearance to the liver, which is normally brownish. As the cysts become filled with brown chitinous spores they appear black by reflected light, and consequently a liver with a severe infection at an advanced stage is quite black, as well as being enormously enlarged owing to the bulk of parasites between the lobes. The liver-cells in such advanced cases were found to have lost their reserve food and to be much reduced in size. In spite of the necrotic condition of this organ, however, the life of the Chiton appeared to be little affected—at any rate, in captivity infected specimens sometimes lived longer than non-infected. No observations appear to have been made on the normal length of life of a Chiton, possibly it may be great. Quite small specimens are often sexually mature; on the other hand, strongly infected specimens are nearly always very large—some of them the largest specimens ever seen at Plymouth. Could it possibly be that development of *Minchinia* in a Chiton causes the whole animal to hypertrophy! On the whole, adult forms were better infected than young ones, as would be expected. I have not seen the earliest stages of infection, but presumably the Chiton become infected when feeding: they are said to be entirely vegetarian. Labbé has figured three (**10**, text-fig. 107) so-called sporozoites in the liver-cells; possibly one of them is something of the kind, the other two appear to be the normal contents of the liver-cells. Many experiments by which I have tried to infect Chiton artificially have given negative results. Ripe spores have not been induced to open when introduced into the œsophagus or placed in fluid from different regions of the alimentary canal. Therefore we seem forced to the conclusion that there is another host; this, at the beginning, seemed unlikely: first, because the spores as developed in Chiton are so admirably adapted for an external free existence, and secondly, it is not easy to see how such an animal as Chiton, which feeds on plants, could easily become infected from other animals. Certain other facts in this connection are given below after the description of the spores.

---

* [The parentheses around the names of authors placed after scientific names in this paper are used in accordance with Article 23 of the International Rules of Nomenclature (Proc. 7th Int. Cong. Boston, 1907, p. 44 (1912)).—EDITOR.]

METHODS.

Bouin's picro-formol-acetic mixture was found to be the best fixative for infected tissue, since this penetrates to a certain extent even into ripe spores. The special methods applied to these spores will, however, be described later when considering their structure. For general purposes picro-nitric and corrosive sublimate mixtures were also satisfactory. Owing to the small size of gametes, sporoblasts, and young spores, it was necessary to have thin sections (3–4 μ), and when there were many chitinous spores this was not easy. Breaking of sections was sometimes prevented by painting with collodion. For following the development of the spores it is essential to have living material, and methyl-green and acetic acid mixture was used for temporary preparations. Numerous coverslip films and smears stained with Giemsa were also used for studying the development. For staining films and sections iron hæmatoxylin or hæmatein methods are of course most useful; water solutions certainly seem to give better results than the alcoholic ones recommended by Lee (**12**, p. 156) and others, though by the latter staining is more speedily effected. The chitinous substance forming the spore coat stains

Paras Prot

very intensely by these methods, which are therefore not always convenient. In these cases Ehrlich's, Mann's, or Delafield's hæmatoxylins have given better results. Carmine stains have always proved disappointing. As a rule counter-staining was not found to be an advantage, the cytoplasm being sufficiently stained by the hæmatoxylin.

PLASMOTOMY.

All Chiton examined from October 1914 to April 1915 were heavily, if at all, infected. In only two cases was endogenous multiplication still proceeding, and these specimens were obtained and fixed during October. One of these (Chiton V) contained also many stages in sporogony and even some ripe spores; the other (Chiton X) was crowded chiefly with plasmodia, which gave a white appearance to the liver. Most of the plasmodia were irregular in outline, but they varied much in shape and size (Pl. I. figs. 1 & 2). Scattered through them were nuclei consisting of masses of chromatin, round each of which could be distinguished a clear space. At this stage the nucleus has no sign of a membrane. Frequently these nuclei were dividing by a simple method of mitosis. In vain have I searched through hundreds of sections to find any trace at this stage of the beautiful spindles which have been figured for some Haplosporidia (**2**) (**18**). Swarczewsky states that Chatton (**5**) must have missed them in *Caullerya mesnili*; but such does not necessarily seem to be the case, for I do not think that they can have been passed over in *Minchinia*.

When about to divide, the mass of chromatin separates into two parts, which gradually move away from one another, but for some time are connected by a slender thread (centrodesmose). It has not been possible to demonstrate the centrosomes contained in these chromatin masses by means of differential staining, although one would expect them to be present.

When a plasmodium has attained a certain size, or from other causes, it breaks up into daughter plasmodia, each with several nuclei (fig. 2). All these trophic stages are quite naked and their outlines generally irregular. It seems clear that they flow along to some extent, probably only very slowly, by putting forth pseudopodia. Sometimes between closely apposed lobes of the liver a plasmodium becomes very elongated and narrow (fig. 1). No doubt want of space often determines the breaking up into daughter plasmodia. It is rare to find one longer than 100 μ or wider than 50 μ.

During this endogenous multiplication of the parasite the host's phagocytes become very active and multiply rapidly, sometimes forming clumps. They appear to make a vain attempt to engulf the parasites, and occasionally one is observed flattened against a plasmodium.

There is a certain amount of evidence to show that solid particles can be ingested by the plasmodia as by an ordinary amœba. Masses of fibres staining black with iron hæmatoxylin may sometimes be seen enclosed in an active plasmodium. They either disappear before encystment, or sometimes they may be extruded in a mass directly after the formation of the cyst, and become compressed between it and the parasite. Further, certain deeply staining granules are generally contained in the cytoplasm, round which no clear space can be observed as round a nucleus. These granules are easily distinguished from nuclei when the latter assume the vesicular form after encysting (Pl. I. figs. 1 & 3, *gr.*), although it is almost impossible to distinguish them before this change is affected. Caullery and Mesnil (**2**, fig. 11) saw similar chromatic bodies left over after the nuclei had become vesicular, but interpreted them as degenerate nuclei. In *Minchinia* they seem likely to be unassimilated particles, possibly remains of host-cells, taken in during the active life of the plasmodium. In one case it was practically certain that the parasite had ingested a host-cell—apparently a phagocyte! In many cases these cells apply themselves so closely to a plasmodium that it is difficult to see any boundary between them (fig. 2). Cuénot (**6**) has recently given some useful information about the activities of the phagocytes of *Chiton*, and usually there is no difficulty in distinguishing the nucleus of one of these cells from a parasite nucleus. In *Minchinia*, however, certain plasmodia occasionally appeared at first sight to be giving off buds in which the nucleus had assumed a vesicular form; but after further study I am convinced that these specimens were really only plasmodia to which host-cells were endeavouring to attach themselves. Gemmation has, however, been described by Swarczewsky (**18**) as a mode of reproduction, in addition to plasmotomy, in certain Ichthyosporidia.

SPOROGONY.

(1) *Formation of gametes.*

When the host has become strongly infected most of the plasmodia draw in their pseudopodia and become rounded off and encysted. It seems possible, from the consideration of after-events, that two plasmodia may mingle before encysting, but no direct evidence has been forthcoming on this point. A thin pellicle is secreted, but in most cases this is soon covered and obscured by the host's amœbocytes, which apply themselves to it, becoming gradually flattened out to form a cellular cyst around the parasite. This cyst is generally only one cell thick (Pl. I. figs. 3 & 4), and its nuclei become more and more flattened with growth. Occasionally there may be four or five layers of cells forming a thick cyst round a parasite, but this is an abnormal condition. The cysts are spherical, and vary very much in size, but they are not generally more than 75 μ, or less than 40 μ, in diameter. The nuclei assume a vesicular form, and probably enter upon a resting

Paras Prot

stage. This change is affected by the breaking up of a mass of chromatin into granules, some of the smaller ones of which pass to the periphery, where a distinct membrane appears. The central chromatin generally forms two or three distinct masses, often connected with the membrane by fine strands. These vesicular nuclei are more or less oval, and their longer diameters are slightly less than 3 μ.

Occasionally, forms have been seen in which the nuclei are massed in the centre, leaving a clear peripheral border of cytoplasm. In addition there is sometimes a cavity in the middle, but the nuclei are not arranged in a definite single layer round this cavity as described by Alexeieff (**1**, p. 36, fig. 4) for his "plasmodes blastuloides" in *Ichthyosporium gasterophilum*. In *Minchinia* the occurrence of the central cavity, at any rate, appears to be an artifact.

When preparing to divide a nucleus of this vesicular type increases in size and a bundle of achromatic threads appears along the greatest diameter acting as a kind of spindle. The chromatin, after arranging itself on this spindle, is drawn to the poles. The vesicle then constricts in the middle, and the two ends are finally nipped off as daughter nuclei. This process has been beautifully figured by Granata (**8**, Plate 3) for *Haplosporidium limnodrili*, in which, according to the magnification given, the nuclei are considerably larger than those of *Minchinia*.

After a time the cytoplasm separates and collects round these nuclei either singly or sometimes in clumps of from two to seven or eight. Occasionally a dozen or so different sized masses have been seen inside a cyst and have been set free by bursting it. When compressed, these masses are seen to contain varying numbers of nuclei. Ultimately, however, such multinuclear masses are resolved into uninuclear bodies which appear at times to be distinctly amœboid. These are the gametes. No residuum is left over except the chromatoid granules, which do not become transformed into vesicular nuclei as already described.

(2) *Syngamy and formation of zygotes.*

The gametes proceed to pair. Fusion of their cytoplasm first takes place to form a single body with still separate nuclei (Pl. I. fig. 5 *a*) for which the term Prozygote has been proposed (**16**). Caullery and Mesnil (**2**) hesitated to give a definite opinion as to whether similar bodies with two nuclei in some of their Haplosporidia represented forms undergoing division or gametes undergoing syngamy, because they also found masses with four nuclei in some cases. The same difficulty presents itself in *Minchinia*; but, after prolonged study of living stages and careful measurements of the different sized bodies and nuclei contained in cysts, the above seems the only possible interpretation. Caullery and Mesnil's forms with four nuclei (**2**, fig. 43) seem to be stages in the formation of the sporoblasts as described below (figs. 7 & 8).

After some time has elapsed the gamete nuclei in the prozygote approach one another (fig. 5 *b*) and fuse to form the syncaryon (fig. 5 *c*). The zygote so formed appears to be produced by autogamy. Such may not be really the case, however, for it is quite possible that the gamete nuclei may have been derived from distinct parents. Either two plasmodia during their wanderings may have come together and their cytoplasm fused before encystment (plastogamy), or there is some evidence in other Neosporidia to show that the amœbulæ fuse in pairs on their escape from the spore. In the latter case probably their nuclei do not fuse but divide independently, and ultimately syngamy takes place between gamete nuclei formed in equal numbers from each parent.

(3) *Formation of spores.*

The zygotes generally proceed almost at once to divide twice (Pl. I. figs. 6 & 7) to give four sporoblasts: division is effected here again by a simple method of mitosis. As a rule, the nuclei go through both their divisions before the cytoplasm divides, so that the stage with four nuclei (Pl. II. fig. 8) is quite common, but sometimes division of the cytoplasm follows after the first nuclear division. Also, these divisions are not always simultaneous even in one and the same cyst, therefore there may be enclosed together with free sporoblasts masses with two, three, or four nuclei, and even an undivided zygote. This fact added much to the difficulty of elucidating the life-history of *Minchinia.*

The sporoblasts when first separated are very small and their protoplasm rather vacuolar. They soon begin to secrete a membrane which is produced into a short tail at either end (Pl. II. figs. 10 & 11). The young spore then grows considerably: presumably the membrane is so thin that it does not prevent the absorption of food. While still quite small its nucleus divides, giving off a parietal mass of chromatin (figs. 9*a* & 9*b*) which sometimes divides into two (fig. 9*c*) These parietal nuclei or masses of chromatin, for possibly they are not true nuclei, are very distinct at this stage. Their prominence, however, is very transitory, for soon after they are masked by numerous other chromatic bodies which are given out by the main nucleus. Probably the parietal " nuclei " themselves also break down into similar chromatic granules or globules. These are highly refringent and pass to the periphery, where they arrange themselves to form the chitinous spore coat, as will be more fully explained later.

At the stage when these globules are passing out in a centrifugal direction there arises in the cytoplasm, near the nucleus, a homogeneous finely granular spherule (Pl. II. fig. 14). I have no evidence that this comes actually from the nucleus as described by Granata (**8**) for *Haplosporidium limnodrili.* The spherule is distinguished by the fact that it stains only slightly and takes up its position just underneath the operculum. Unripe spores open

Paras Prot

fairly easily when treated with certain reagents, methyl-green acetic mixture for example. From a young spore under these conditions the spherule makes its way out as soon as the operculum is raised. Similar bodies have been mentioned as occurring in many Haplosporidia. In *Minchinia* the spherule is very large at the stage when the spore coat is nearly completed (figs. 13 & 14), and after this appears to gradually diminish, until in the ripe spore it is generally not to be distinguished at all. Possibly it is composed of some kind of reserve food on which the developing spore can feed as soon as it is cut off from the outer world by the formation of its thick chitinous coat.

During the deposition of the substance which forms the chitinous coat there is a considerable shrinkage of the nucleus (figs. 12, 13, 14). Although the substance appears to come directly from the nucleus it is not presumably similar to chromatin in composition. In the living it is more refringent. When the globules, which arrange themselves at the periphery just inside the spore membrane (fig. 14), are sufficiently numerous they begin to run together. Ultimately a continuous layer one micron in thickness is formed all round the spore (figs. 13 & 15). This is at first colourless, but later becomes light brown but remains translucent. In its behaviour to certain stains this substance also differs from chromatin. Although it stains densely black with iron hæmatoxylin and red with saffranin, the more selective nuclear stains such as Ehrlich's, Mann's, and Delafield's hæmatoxylins do not stain it nearly so intensely as chromatin. In Giemsa preparations the membranous covering of the spore generally stains red and the inner chitinous coat blue, not red like the nucleus.

The chitinous substance is very resistant: like true chitin, it is not dissolved by boiling in strong caustic potash (30 °/₀); but, on the other hand, it does not acquire the characteristic mauve colour shown by chitin with the iodine in potassium iodide and zinc chloride test. Thus it must be concluded that while closely resembling, it is not identical with ordinary chitin.

(4) *Spores.*

The ripe spores vary a good deal in size but are always oval, and when living generally about 10 μ long and 6 μ wide. The largest measured was 13 μ long and 8 μ wide. The latter giant spores seem to be distributed promiscuously; that is, there is no distinction of cysts into those containing macrospores and microspores. Normally the tails into which the outer membrane of the spore is produced are about four times the length of the spore, but they are more or less brittle, and often become broken off. The chitinous coat is thick and very resistant. It can be softened in various ways, *e.g.* immersion in Eau de Javelle or weak formalin, in order to make it sufficiently permeable for its contents to be stained. Formalin (4°/₀ formaldehyde) is especially good for this purpose, and when followed by Ehrlich's hæmatoxylin enables the spore nucleus to be well stained. Prolonged immersion in distilled water had no apparent effect on the spore. Iodine stained the chitinous coat yellow but otherwise had no result. Adult spores were occasionally induced to open by pressure and reagents combined (Pl. II. fig. 16). The operculum always opened away from the tail and turned inside out, but remained attached by the outer membrane, which acted as a hinge.

Apparently the spores of *Minchinia* are set free only by the death of the host.

From the structure of the spore one would expect it to be destined for a prolonged free existence in sea-water. It has been proved experimentally that the spores can remain for months apparently unchanged in water, and can also undergo drying to some extent. No success, however, has been obtained in attempts to make them infect other Chiton directly. Living spores have resisted all attempts to make them open. On some occasions spores have been introduced into the œsophagus of a Chiton by means of a very fine pipette; on another occasion a few spores in a tiny piece of blotting paper tied with a fine silk thread were introduced into the œsophagus of an uninfected Chiton, but on removal after several hours were found to be quite unchanged. At other times spores, after being in sea-water, have been mounted with teased portions from different regions of the alimentary canal, all with no result. One such preparation sealed up on November 27th, and another on December 18th, lost all bacterial infection after a few days, and were on March 22nd quite sterile with the spores unchanged.

Uninfected specimens of Chiton were also kept during March and April under conditions as normal as possible except for the presence of numerous spores of *Minchinia* in the water. Although the Chiton ate the fucus to which spores easily adhere, they did not become infected during seven weeks nor were any spores found in their alimentary canals *.

Attempts were then made to infect other animals from the rocks at the same zone with the spores of *Minchinia*, as it was thought that possibly shore fish, etc. might become infected in this way with another vegetative stage of *Minchinia*. Owing to the courtesy of the Director, these experiments have been carried on in the Marine Biological Laboratory, Plymouth, and I am indebted to Mr. A. J. Smith for much valuable assistance. In each case stones with several Chiton attached were introduced into large tanks through which water was circulating and containing the animals being experimented upon. The results of these experiments were as follows:—

1. *Blenny.*—These fish attacked the Chiton readily. All stages

---

* See note at end of paper.

Paras Prot

of *Minchinia* were digested except the ripe spores, which pass through unchanged. It is of interest to notice that the shell of the Chiton passed through undissolved, the eight plates reappearing generally unbroken in the fæces, whereas in the case of *Pomatoceros*, which is also readily torn from the rocks and devoured by the Blenny, the portions of tube eaten were softened if not entirely dissolved. This difference is, no doubt, due to the greater proportion of insoluble organic matter in the Chiton shell.

2. *Rockling.*—Chiton left undisturbed for 7 days.
3. *Goby.*—One Chiton bitten off, but none eaten during 8 days.
4. *Motella.*—Chiton left undisturbed for 12 days.
5. *Crab* (*Carcinus mænas*) devoured Chiton readily. All stages of *Minchinia* were digested except the spores, which passed through unopened. The tails of the spores were often broken, for, as a rule, the spores were freed from their cysts.
6. *Purpura.*—Chiton left undisturbed for over a month.
7. *Star-fish* (*Asterias glacialis*)—6 Chiton out of 8 eaten in 10 days. *Minchinia* spores found in alimentary canal showed no signs of opening.
8. *Sea-Urchin* (*Echinus miliaris*).—Chiton left undisturbed for 13 days.

The passage of the spores through the alimentary canal of the Crabs and Blennies lasted at most three days. Doubtless in this way they are disseminated, but they do not appear to be changed. Experiments to induce spores, recovered from the fæces, to open in the digestive fluids of Chiton were no more successful than with fresh spores.

From the description given above it will be clear that *Minchinia* has affinities with *Urosporidium* and *Haplosporidium* and belongs to the family Haplosporiidæ of Caullery & Mesnil (**2**), which Léger and Duboscq (**15a**) also recognise as a well-defined group. There is therefore no need to enter here into the controversy as to whether the Haplosporidia taken as a whole, as conceived by Caullery and Mesnil, is a rational group. Doubtless, as these authors were well aware, some rearrangement will be necessary when more is known as to the life-history of these strange forms. Cépède (**3** & **4**) in 1911 and 1913 briefly described a curious Haplosporidian from *Donax*, unfortunately without giving any figures; owing to the presence of a surrounding cell in the young spore he seemed to think that the term Haplosporidia (ἁπλοῦς, simple) was not suitable, and suggested renaming the group Acnidosporidia. There appears to be no need for such a procedure, the *Donax* parasite and also *Minchinia*, in which the young spore likewise shows an indication of a parietal nucleus, have simple spores in comparison with those which possess polar capsules. At any rate it seems most inadvisable at present to encumber with new names and classifications the already complicated literature of these forms when the majority of their life-histories have never been at all satisfactorily investigated.

[10]

Summary.

1. The genus *Minchinia* is here shown to belong to the Haplosporidia, instead of to the Coccidia, among which it has been placed since it was established by Labbé in 1896.
2. Its life-history in Chiton consists of two stages, a trophic and a sporogonic.
3. During the trophic stage a multinucleate individual divides by a process of plasmotomy.
4. During the sporogonic stage a plasmodium becomes encysted, forms gametes, which fuse in pairs (? autogamy, see page 451) to give zygotes. The zygote breaks up into four sporoblasts, each of which acquires an external membrane drawn out into a tail at each end, and later a thick chitinous coat immediately inside the membranous one.
5. Crabs, Blennies, and Star-fish eat Chiton, but the spores of *Minchinia* pass through unchanged, and are in this way disseminated.

The Museums,
Oxford.

P.S.—Since writing the above many Chiton have been kept here in Oxford with free spores of *Minchinia* in aerated sea-water. After three or four weeks numerous unopened and unchanged spores, often enclosed in fæcal pellets, were found in the intestine of several of the Chiton. These, which included uninfected and previously infected specimens, were carefully examined and some were cut in serial sections, but in no case did the spores show any sign of opening. All organs of the specimens not previously infected were quite normal.

This failure of the spores to open when eaten naturally by Chiton, confirms the negative results obtained in the above experiments, and we seem forced to the conclusion that the spores of *Minchinia* do not open in any part of the digestive tract of Chiton.

Of course there is the possibility that free spores may be taken in by some minute animal in which they germinate before passing back (perhaps by accidental swallowing) into another Chiton. However, no evidence is forthcoming on this point at present, although several Neosporidia have been already described from small marine animals.

References.

1. Alexeieff, A.—"Sur le cycle évolutif d'une Haplosporidie (*Ichthyosporidium gasterophilum*)." Arch. Zool. Expér. 54 : Notes and Revue, pp. 30–44, May 1914.
2. Caullery, M., & Mesnil, F.—"Recherches sur les Haplosporidies." Arch. Zool. Expér. 4e sér. iv. pp. 101–181. 1905.
3. Cépède, C.— "Le cycle evolutif et les affinités systématiques de l'Haplosporidie des *Donax*." C.R. Acad. Sc. Paris, vol. 153, p. 507. 1911.

Paras Prot

4. **Cépède, C.**—" Les Cytopleurosporés . . . embranchement nouveau du Règne des Protistes." C.R. Acad. Sc. Paris, vol. 156, p. 574. 1913.

5. **Chatton, E.**—" *Caullerya mesnili*, n. g., n. sp. Haplosporidie parasite des Daphnies." C.R. Soc. Biol. Paris, t. lxii. p. 529. 1907.

6. **Cuénot, L.**—" Les organes phagocytaires des Mollusques." Arch. Zool. Expér. 54, pp. 267–305. 1914.

7. **Doflein, F.**— Lehrbuch der Protozoenkunde. Fischer, Jena, 1911.

8. **Granata, L.**—" Ricerche sul ciclo evolutivo di *Haplosporidium limnodrili* Granata." Archiv Protistenkunde, xxxv. pp. 47–79. 1914.

9. **Labbé, A.**—" Recherches sur les Coccidies." Arch. Zool. Expér. 3^{e} sér. iv. p. 533. 1896.

10. **Labbé, A.**—Sporozoa, in Tierreich, 5. p. 53. 1899.

11. **Lankester, E. Ray.**—Protozoa. Encyc. Brit. vol. xix. p. 853, fig. 12. 1885.

12. **Lee, A. Bolles.**—" The Microtomist's Vade-mecum." Churchill, London, 1913.

13. **Léger, L.**—" Nouvelle Coccidie polysporée du tube digestif des Myriapodes." C. R. Soc. Biol. Paris, xlix. p. 1082. 1897.

14. **Léger, L.**—" Etudes sur les Coccidies." Bull. Sc. France et Belg. xxxi. pp. 1–22. 1898.

15. **Léger, L.**—" Sur les Microgamètes des Coccidies." C.R. Soc. Biol. Paris, 10^{e} sér. v. pp. 639–641. 1898.

15a. **Léger, L., & Duboscq, O.**—" *Selenococcidium intermedium* et la systématique des Sporozoaires." Arch. Zool. Expér. 5^{e} sér. v. pp. 187–239. 1910.

16. **Pixell-Goodrich, H. L. M.**—" The Sporozoa of Spatangoids." Quart. Journ. Micros. Sc. vol. lxi. 1915.

17. **Schaudinn, F.**—" Untersuchungen über den Generationswechsel bei Coccidien." Zool. Jahrb. Anat. vol. xiii. pp. 197–287. 1900.

18. **Swarczewsky, B.**—" Ueber den Lebenscyclus einiger Haplosporidien." Archiv Protistenkunde, xxxiii. pp. 49–108. 1914.

EXPLANATION OF THE PLATES.

Unless otherwise stated, the figures were drawn with a camera lucida from preparations stained with iron hæmatoxylin.

Lettering.

c., cyst; *ch.*, chitinous coat of spore; *d.*, daughter plasmodium; *g.*, gamete; *gr.*, chromatoid granule; *h.*, host-cell; *n.*, nucleus; *o.*, operculum; *s.*, sporoblast; *sp.*, spherule; *t.*, tail of spore.

Plate I.

Fig. 1. Section of a small Plasmodium of *Minchinia* with pseudopodia and several nuclei, some dividing. × 1000.

2. Another specimen showing Plasmotomy: *d.*, small daughter plasmodium partly covered by dividing parent form: *h.*, host-cells (phagocytes). × 2000.

Fig. 3. Portion of a section of an encysted parasite beginning to break up into gametes: *c.*, cyst with host-cells flattened against it; *g.*, amœboid gamete. Stained Ehrlich's hæmatoxylin. × 2000.

4. Portion of a cyst containing free and conjugating gametes. × 3000.

5. (*a*) Prozygote formed by fusion of the cytoplasm of two gametes. Stained Ehrlich's hæmatoxylin. (*b*) Zygote showing formation of syncaryon. (*c*) Zygote with syncaryon. All × 3000.

6. Zygote showing first division of the syncaryon. × 3000.

7. Later stage: second division nearly complete. × 3000.

PLATE II.

Fig. 8. Portion of a cyst showing two stages of division into the four sporoblasts: *s.*, free sporoblasts. × 3000.

9. Stages in early spore-formation from sections. × 3000. (*a*) Showing beginning of nuclear activity; (*b*) showing single parietal nucleus; (*c*) showing two such bodies and a portion of the membranous coat and tail cut through.

10. Young living spore from a cyst: the clearer space indicating position of nucleus. × 2000.

11. Slightly older spore also drawn from the living. × 2000.

12. Young spore with large nucleus giving off chromatic bodies into cytoplasm. × 3000.

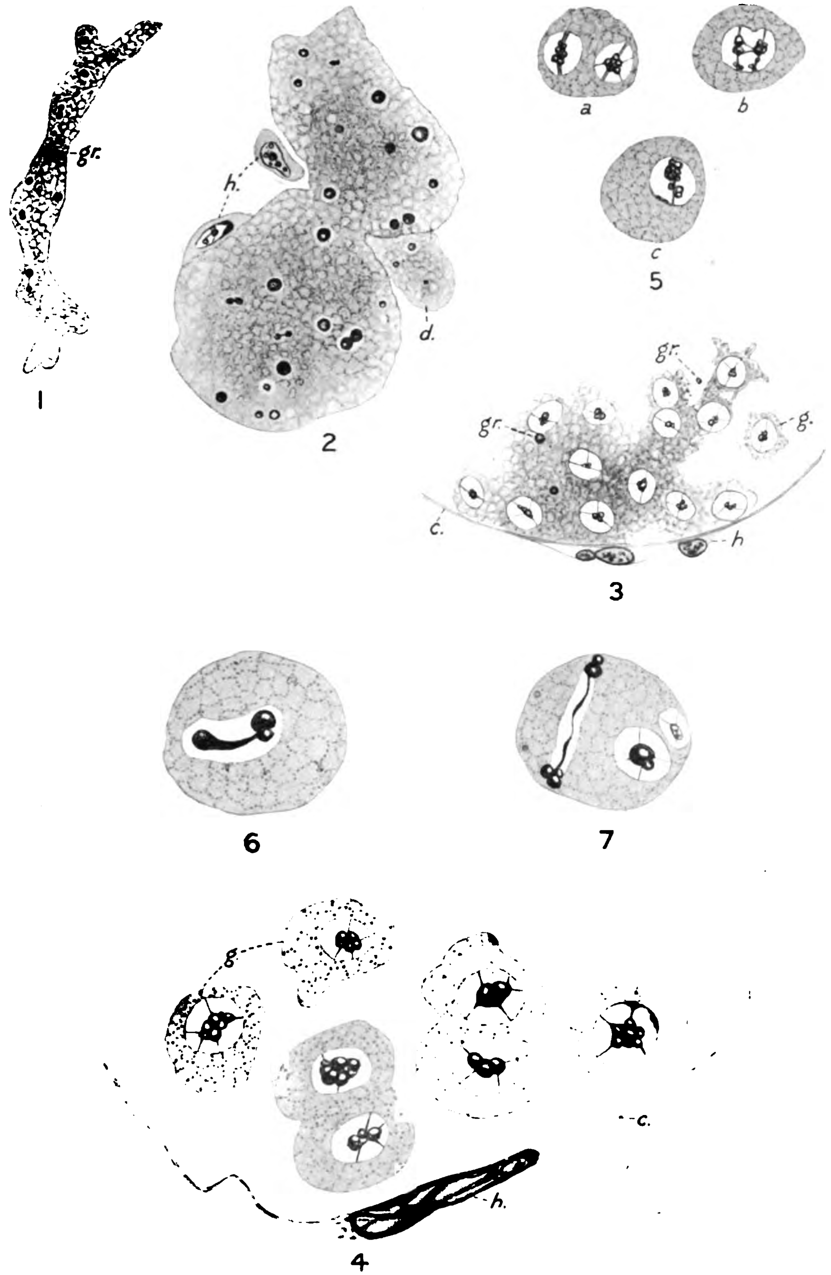
13. Optical section of a spore nearly full grown and with chitinous coat (*ch.*) almost complete. Membranous tails (*t.*) cut through spherule (*sp.*). × 3000.

14. Optical section of a free spore at stage between those represented by figs. 12 and 13, showing chromatic granules arranging themselves just inside membrane to form chitinous coat. Slightly flattened by cover-glass. × 2000.

15. Adult spore drawn from the living. × 1000.

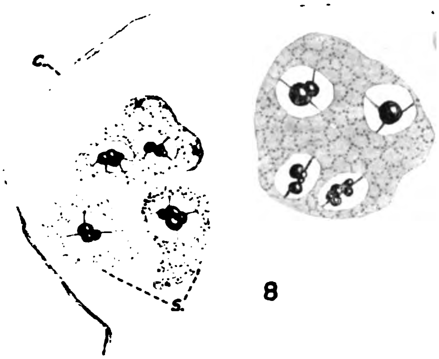
16. Spore opened by means of pressure and reagents. × 1000.

Paras Pr

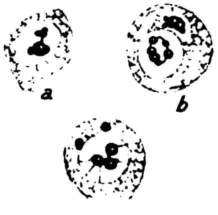


MINCHINIA.

Paras Two

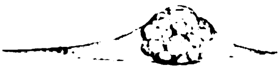


8

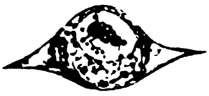


9

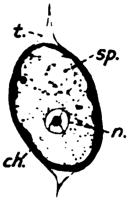
10



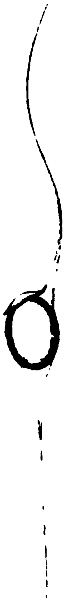
11

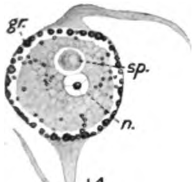


12

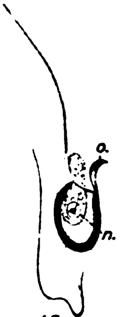


13





14



16

MINCHINIA.

Paras Prot

xell-Goodrich HLM

4:4. Sporozoa of Spalangoids

⑨

Paras Prot

On the Life-History of the Sporozoa of Spatangoids, with Observations on some Allied Forms.

By

Helen L. M. Pixell-Goodrich, B.Sc.,
Beit Memorial Research Fellow.

With Plate 8.

CERTAIN Spatangoids harbour peculiarly interesting parasites which were named by Giard in 1876 (**8**) Lithocystis, owing to the fact that their cysts invariably contain crystals. He interpreted the tail with which the spores are provided as two filaments which approached one another, and consequently did not realise the close affinities of this genus with Urospora, established by Schneider in the preceding year (**23**).

These gregarines were further studied by Léger in 1896, 1897 (**13, 14**), and he also allowed the genus Lithocystis to stand distinct from Urospora, owing to their possessing "des productions cristallines caractéristiques" (**14**, p. 145).

After an extensive study of different stages of these parasites I am quite convinced that such crystals are in no way characteristic of any one genus of gregarines, but more probably common to any parasites living in the highly mineralised cœlomic fluid[1] of Spatangoids; at all events, they are present in Urospora under these conditions.

---

[1] Presumably this cœlomic fluid has much the same composition as that of the Echinoids, Toxopneustes lividus and Strongylocentrotus lividus, analysed by Mourson and Schlagden (**19**, p. 792). There may, however, be slight differences, for, as Léger points out, true

In fact, no satisfactory characteristic has so far been put forward for distinguishing Lithocystis from Urospora, and it seemed at first advisable to include all the Spatangoid gregarines, of which there are certainly several distinct species, in the latter genus. However, on investigating their early stages, it was discovered that certain forms have not only flagellated gametes (Pl. 8, fig. 19) now for the first time, as far as I am aware, recorded with certainty in monocystid Gregarines, but also flagellated and therefore actively moving zygotes (Pl. 8, figs. 24–26). This characteristic appears to be constant for true Urospora (those with filiform tails to the spores). It is therefore suggested that on this account the genus Lithocystis, established by Giard (**8**) in 1876, be retained for the present distinct from Schneider's genus Urospora, established in 1875 (**23**).

I am much indebted to the British Association for the use of their tables, both at Naples and Plymouth, where I have studied these parasites. The investigation of Lithocystis was undertaken at Prof. Minchin's kind suggestion in the hope of being able to clear up the question as to the occurrence of solitary encystment. My observations on this subject are recorded on page 87. Through the kindness of Prof. G. C. Bourne, much of the work has been done in the Department of Comparative Anatomy, Oxford. My husband, Mr. E. S. Goodrich, has drawn some of the living specimens and given me other valuable assistance, especially with the figures. I take this opportunity also for expressing my thanks to Mr. A. T. Watson for most generously sending me many living specimens of Pectinaria from Llanfairfechan and from his collections in Sheffield.

Echinoids in general are free from Gregarines. It may be well to mention here that, although some authors have included Strongylocentrotus as a possible host of Lithocystis, there seems to be no evidence in favour of such a procedure. Many specimens examined at Naples showed no Gregarines at all, but numerous Ciliates.

MATERIAL AND METHODS.

Echinocardium cordatum from Naples, Plymouth, and Port Erin have always been found to be well infected; also the deep-water species of Echinocardium and Spatangus purpureus from Plymouth.

In examining them it has been found best, after rubbing off the spines from a small area, to make a little hole in each side of the test, taking care, of course, to avoid the coils of the intestine. The cœlomic fluid, with the contents, can then be poured out into a suitable vessel and examined with a binocular microscope. Afterwards, the inside of the test is carefully washed out with sea-water introduced by a pipette through one of the holes and the washing collected and examined in a similar way. After this has been done it is rare, on cutting round the test, to find that any parasites remain except those ripe cysts generally fixed in masses to the oral surface of the host.

The cysts containing early stages are generally free in the cavity and readily distinguished by their opacity. The cyst walls of those with ripe spores, where not covered with amœbocytes, are so translucent that the spherical mass of crystals shows up with great clearness in the interior. Nearly all my work has been done on the living parasites, though films showing most of the stages have also been made, as well as sections where possible.

Hot corrosive sublimate and acetic acid mixture have been found satisfactory for fixing the sporozoite nuclei of the ripe spore. In studying differences in the shapes of the tails it has been found best to overstain with iron hæmatoxylin or hæmatein, which are fairly readily taken up by the epispore, but very readily lost again on differentiating with iron alum. Orange G and nigrosene also stain the epispore, but not very easily. Unless well stained the tails are of course practically invisible when mounted in Canada balsam. For rough comparison I have found ordinary ink (Stephens') very convenient for staining the tails of fresh spores.

GENUS LITHOCYSTIS.

Trophozoites and Associates.—The long narrow trophozoite of Lithocystis has already been drawn by Léger (**14**, Pl. 11) and some of his excellent figures are reproduced in most text-books of Protozoology (Minchin (**17**), Doflein (**7**)). Even at an early stage there is a tendency in the myocyte of opposite sides to contract alternately, thus forming right-angled bends in the middle of the parasite, where association is later effected; at times the more pointed end is used. for temporary fixation. The extraordinary movements and alterations of shape that are undergone by specimens, either singly or in association, could only be portrayed by the cinematograph. It appears that the protoplasm streams at a great rate down the centre of the parasite and its direction is suddenly reversed at regular intervals. All the time there is an eddy at the sides flowing in the opposite direction to the main stream, so that when one end is just empty there is a thin stream of fine granules into it down each side, often producing a kind of dagger-like point before the main stream of protoplasm rushes back. Léger has described the structure of the trophozoite and its movements, so that there is little to add. He figures the nucleus with a single karyosome, whereas I have constantly found a large one at either side of the elongated nucleus; in a Lithocystis of 2 mm. in length the nucleus was 90 μ by 40 μ, and each karyosome 20 μ in diameter. The nuclear membrane is resistant and elastic, enabling the nucleus to be squeezed quite out of its normal shape in passing the bend, where the gregarine is at times very narrow. It is carried in the main stream of protoplasm, as are also the crystals, which begin to appear at an early stage. These large calcium oxalate crystals are presumably formed by the action of the soluble calcium salts absorbed from the host's cœlomic fluid on oxalic acid secreted by the parasite. They are not very noticeable at this stage when mixed up with the dense protoplasm. It is only after encystment that they collect into the remarkable spherical mass, in which form they are no doubt less liable to interfere with the increased activities of the protoplasm.

Trophozoites are very frequently to be seen in association. Union, which is only slight for a long time, is effected at the bend, and for hours both associates keep up their extraordinary movements, having the appearance of a large writhing X (Léger (**14**), Pl. 11, Minchin (**17**), p. 195, fig. 29*a*). Selenidia have been seen to go through somewhat similar movements during association, but owing to the greater rigidity of their ectoplasmic layers, their movements are not accompanied, as in Lithocystis, with such marked changes in outline.

By keeping the associates in cœlomic fluid in a dark place it was hoped to induce them to continue their development, but sometimes, after twenty-four hours and more, they were found to have exactly the same appearance, though with slower movements.

Occasionally forms were to be seen which had become more or less rounded off, and in which movement had almost stopped, so that their surfaces were disturbed by a rhythmical wave-like movement only (fig. 1). In this condition the parasite is an easy prey to the numerous phagocytes of the host. These arrange themselves all over the surface, uniting by their pseudopodia to form a regular network. These stages have been beautifully figured by Léger (**14**, Pl. 12), so that it is unnecessary to draw them again. Especially long pseudopodia project outwards, giving the parasites a spiny appearance. The protoplasm also takes on a very characteristic vacuolar structure, with crystals lying in the vacuoles. In many all sign of movement has stopped, the nucleus has more or less broken down, and evidently general disintegration is about to follow. At any rate, no real cyst is formed, and no further developmental stages ever occur, so that there can be no doubt that such spiny forms are in an advanced pathological condition. Exactly the same fate may happen to a pair after association, as figured by Léger (**14**, Pl. 12, figs. 3 and 4), and reproduced by Minchin (**17**, p. 195, fig. 39*b*). That this is no ordinary encystment, as is generally stated, is made quite clear by comparison with normal stages. Immediately after normal association is effected a definite cyst is formed, on the outside of which amœbocytes can accumulate without harm to the parasites.

These necrotic forms were specially plentiful in the Channel during October and the end of September of this year (1914). One specimen of Echinocardium contained as many as thirteen, and in only three out of about fifty infected Spatangoids examined at that time was an ordinary trophozoite of either Lithocystis or Urospora found.

One must conclude from this that there is a loss of vitality among the parasites at this time of year which enables the phagocytes of the host to attack them more easily. Whether the loss of vitality results only in loss of movement, or also in the cessation of some secretion, it is difficult to say. There seems good reason, however, to think that during the healthy life of trophozoites there may be a secretion to which the amœbocytes are negatively chemiotatic, as is maintained by Cuénot (**6**). An occasional specimen has been seen, for instance, which had nearly lost all movement, and rounded off without being submitted to attack (fig. 1.) The presence of such a secretion would account also for the fact that normal associates can keep themselves free from attack during loss of movement. However, this is a difficult problem, on which there has already been considerable discussion, Siedlecki (**25**, p. 437) taking the view that movement of the parasite alone is sufficient to prevent the attack by amœbocytes in the case of annelids.

Another observation of some interest in connection with these degenerate forms was provided in October by two associates which had managed to form a cyst round themselves for protection against phagocytes, but had evidently no vitality left to proceed further, for they were lying shrunken and obviously moribund at one side of their cyst. Now, in these the protoplasm had assumed that characteristic vacuolar appearance with crystals in the vacuoles which, I maintain, is a sign of necrosis.

Sufficient proof has now been brought forward to show that the above-described forms, with amœbocytes forming a spiny covering, are undoubtedly in a pathological condition. These were, however, the forms referred to by Léger (**14**, p. 252) as cases of normal encystment and solitary encystment. Lithocystis has consequently been quoted in text-books as a Gregarine in which a single sporont can encyst by itself and proceed to form spores. It is clear, therefore, that there is now no reason in the case of Lithocystis at any rate for thinking that solitary encystment does, or can, take place as a normal stage of development.

As will be explained below, there are constant differences in the zygotes and spores, which make it quite clear that there is more than one species of Lithocystic parasitic in Spatangoids. To prevent confusion, therefore, it has been necessary to introduce new names by which to distinguish these species. These have been made as few as possible, and several forms have been mentioned as varieties, which may eventually have to be separated as distinct species. The trophozoites, as one would expect, show no important differences, and it is only by careful comparison that they can be distinguished. The original Lithocystis schneideri, described by Giard (**8**) from specimens of Echinocardium cordatum from Wimereux, is apparently the largest form. This is a species which I have found very commonly in Echinocardium from Plymouth and Naples. In the spore (Pl. 8, figs. 12 and 14) the two edges of the tail have somewhat the appearance, before being stained, of two flagella, and this, no doubt, accounts for Giard's interpretation referred to above. When full grown the trophozoites are 3 to 4 mm. long, and the cysts formed by an associated pair are the largest to be met with, being sometimes as much as 2 mm. in diameter. L. foliacea, n. sp., has a considerably smaller tropozoite, and its cyst seldom exceeds ·6 mm. in diameter. This species is also found in Echinocardium, both in the Channel and Mediterranean.

The third form, L. microspora, n. sp., is found in Spatangus from the Channel. It is much smaller than the other species, having a tropozoite less than 1 mm. in length, and its cysts only ·1 to ·3 mm. in diameter.

With experience it becomes fairly easy to predict which species will be found in any one cyst by its size, but some of the Urospora cysts described below are exactly the same size as the small Lithocystis species (L. microspora). Generally the cysts containing adult spores of all species and both genera are massed together on the oral side of the host. The cysts are held in masses by, and more or less covered with, amœbocytes together with a quantity of dark purple or black pigment. Presumably these masses may sometimes represent an accumulation of years; at any rate, the number of cysts varies greatly in different individual hosts.

Gametes and Syngamy.

Parasites which had recently associated and safely encysted formed spheres which were generally found floating freely in the cœlomic fluid. They could readily be distinguished from old cysts containing ripe spores by their greater opacity. By bursting cysts containing full grown gametes syngamy has been seen taking place on the slide. There is a slight sexual dimorphism, but apparently no constant difference in the size of the nuclei at this stage. The gamete which, as explained below on p. 94, must be considered as the female has its nucleus close to or extending into the small conical projection at the apex of which is the centrosome (Pl. 8, fig. 2). In the other gamete (fig. 3) a corresponding process has not been seen; it is probably lost at an early stage, the centrosome having probably travelled inwards with the nucleus, which tends to be central in position. Union between such a pair of gametes takes place along definite surfaces, producing a combination of very constant form in which the nuclei always occupy the relative positions shown in fig. 4. Exactly similar forms have been obtained directly, together with the slightly later stages represented in fig. 5, by bursting other cysts. Consequently there seems to be no doubt that they are normal and that the gametes and zygotes do not possess at any time a flagellum such as is described below for Urospora.

Soon after this union fusion of the cytoplasm of the two gametes takes place, and the "male" nucleus approaches the "female," although they do not at once combine (fig. 5). This delay in the formation of the synkaryon is quite remarkable. The term zygote should, strictly speaking, only be used for the body formed by the complete fusion of the gametes—nuclei as well as cytoplasm. It therefore seems necessary to have another term to denote such stages as those represented in figs. 5, 11*a*, 26, etc., where the cytoplasm is completely fused but the gamete nuclei are still separate. I therefore venture to introduce the term prozygote to denote the body formed by fusion of the gametes prior to the fusion of their nuclei to form the the synkaryon (figs. 5 and 26). It will be observed that in the living (figs. 9, 10, 24, and 25) it is difficult, if not impossible, to distinguish whether the nuclei have fused or not.

The tail of the spore develops at the position of the cone and the centrosome of the female gamete, and is sometimes quite well developed before the synkaryon is formed.

Zygotes and Spores.

Even before this stage is reached it is quite easy to distinguish constant differences which make it quite clear that one is dealing with different species of Lithocystis. The adult spores are also very characteristically different as regards the shapes of the tails. Both Giard (**8**) and Léger (**14**) noticed the different sizes of the spores found in Spatangoids and referred to them as normal spores, microspores, etc. Léger also noticed the different shapes of the tails, but attributed them to stages in growth (**14**, p. 260). It seems, in the light of the present knowledge of spore-formation, very improbable that a passive organ like the tail of L. schneideri (fig. 14) corresponding to Léger's fig. 1, Pl. 13, could change its shape to that of fig. 23*b* (Léger's fig. 2, Pl. 13) during a brief space of time. It is now proved that such is not the case by following the stages passed through from the zygote to the adult spore.

The tails in all Lithocystis are fundamentally hollow extensions of the epispore, but the walls of these tubular structures are thin and easily collapse, especially at the distal end. In L. foliata the whole tail becomes flattened at a very early stage, but specimens of L. schneideri are often to be seen in which the distal half or third of the tail is flattened while the rest remains tubular.

After the rounding off of the young spore into its final oval shape (Pl. 8, figs. 7 and 12) and the completion of the tail, the nucleus moves towards the centre of the spore and proceeds to divide into two, then into four. At this stage the epispore becomes considerably thickened. In order, therefore, to obtain good preparations of the spore with eight nuclei it has been found necessary to fix in hot corrosive acetic mixture. When the sporozoites become separated off there is a highly refringent granular residue left in the middle of the spore (fig. 13). With regard to the sporozoites themselves, there is little to say—the nucleus is about midway between the blunt and somewhat pointed extremities. Escape is effected through the funnel of the spore at the opposite end from the tail. If destined to develop, the spores, after being liberated by the rupture of their cysts in the sea water, are presumably taken in by fresh hosts with their food.

In L. schneideri the prozygote remains two-lobed for some time (Pl. 8, figs. 9–12), and the tail early assumes its normal tubular character. Apparently fusion of the nuclei does not take place until the prozygote has assumed the shape shown in (fig. 11*a*); the zygote (fig. 11*b*) then rounds itself off (fig. 12), but the synkaron remains near the tail until it begins to divide to form the sporozoite nuclei. The characteristic way in which young spores arrange themselves in groups inside the cysts with their tails towards the centre, and the later arrangement of the ripe spores in rosettes with their funnels towards the centre and their tails projecting straight outwards, have been described by Léger (**14**). This characteristic rosette-formation is more marked in L. schneideri than in any other species. In some others there is often an arrangement in elongated groups.

In Spatangus purpureus from Plymouth the spore of a form, otherwise very similar to L. schneideri, often shows markings which give the epispore a somewhat papillated appearance. The tail of both spore and prozygote (fig. 10) is slightly longer than that of Echinocardium forms so that possibly it should constitute a distinct species.

In the case of L. foliacea, n. sp., the prozygote is top-shaped (Pl. 8, fig. 5) and soon passes into the true zygote (fig. 6); both of these forms have been obtained in the same cyst. Forms represented by figs. 4 and 5 have also been obtained in one and the same cyst, and as it is usual for all the contents of an individual cyst to reach any one stage almost simultaneously, it is concluded that in the case of this species, at any rate, the prozygote stage is very brief. After the formation of the synkaryon the characteristic tail grows apace; this, instead of remaining straight as in L. schneideri, expands near its distal end to form a flat leaf-like expansion considerably wider than the spore (Pl. 8, figs. 7 and 8). These tails are very thin and liable to twist, so that in unstained preparations it is difficult to make out their true shape.

In Lithocystis microspora, *n. sp.*, both zygotes and spores are distinctly smaller than in the other two species of Lithocystis and are in consequence easily distinguished. The zygote has the form shown in Pl. 8, fig. 16 with a small triangular tail. The adult spore has a narrow tubular tail which is generally flattened and two to three times the length of the actual spore (Pl. 8, fig. 15).

GENUS UROSPORA.

Trophozoites and Associates.

The trophozoites of Urospora are smaller than Lithocystis rarely attaining a length of half a millimetre (Pl. 8, fig. 17).

They are elongated with coarsely granular protoplasm containing crystals as in Lithocystis. A clear epimerite may generally be distinguished at one end and by this temporary attachment may be effected. The parasite undergoes only sluggish sinuous movements with slight change of outline. The nucleus is nearly round and has often only a single karyosome. The trophozoites, either before or after association, may be attacked by amœbocytes in the same way as Lithocystis, and after studying many instances I feel confident that the same explanation should be given. After normal association encystment takes place as usual and the crystals collect into a spherical mass.

Gametes and Zygotes.

The cysts are, as a rule, considerably smaller than those of Lithocystis except L. microspora. They have fairly transparent walls, through which stages in nuclear division may be seen. At the stage represented in fig. 18 there is a distinct sexual difference in the nuclei—the upper associate with larger and less chromatic nuclei than the other, being presumably the female.

Any movement inside the cyst may be easily detected, and by breaking the wall syngamy has been detected taking place on the slide. One gamete, presumably the "male," has a long flagellum (Pl. 8, fig. 19), by the lashing of which it moves actively and seeks out the "female," in which no flagellum has been seen. Here, again, as in Lithocystis, union takes place along definite surfaces, so that a prozygote of characteristic shape is formed (figs. 20, 24–26). This retains its single flagellum, by the lashing of which it maintains a twirling movement about the rudimentary tail. This motion has been clearly seen through the cyst wall before rupture.

When Siedlecki (**24**) in 1889 described the true gametes of Gregarines and recorded for the first time the method of fertilisation, he quite realised that in the so-called "dance of the sporoblasts" the movements appeared to be due to flagella, although he could not distinguish them either in the living or in fixed preparations. Other authors have also suggested their occurrence, but as far as I can make out this is the first genus of monocystid Gregarines in which they have been seen with certainty. Further, since here only the "male" gamete appears to be flagellated, the Urospora form a connecting link between those monocystid Gregarines in which isogamy is nearly perfect and such forms as the polycystid Stylorhynchus, in which, as shown by Léger (**15**), the "male" gamete is not only flagellated, but so very different from the "female."

In Urospora, as in Lithocystis, fusion of nuclei does not take place at once (fig. 26), so that there is a more or less prolonged prozygote stage during which the "female" nucleus is situated in the developing tail, towards which the "male" nucleus slowly moves from its original position near the flagellum.

The prozygote of the Mediterranean species Urospora neapolitana, n. sp., has a most striking appearance with its peculiar corkscrew-like tail (Pl. 8, fig. 20). This species has not been met with in the Echinocardium or Spatangus of the Channel.

The prozygote of Urospora echinocardii, n. sp., the form found commonly in the Channel Spatangoids, is somewhat larger and has a more or less straight and pointed tail (fig. 24). It only differs very slightly, if at all constantly, from the prozygote of the Urospora occurring in Spatangus (figs. 25 and 26). The spores into which they develop are also so similar that there seems to be no need at present, at all events, to establish another species for the Spatangus parasite.

After fusion of the nuclei, the oval shape of the adult spore is soon assumed (figs. 21, 22, and 28). The synkaryon divides by a simple process into two, four (fig. 29), then eight. Meanwhile, the epispore thickens considerably, and inside the spore fine protoplasm collects round the nuclei to form the eight sporozoites, leaving a coarsely granular and refringent residuum in the centre.

SPORES.

U. neapolitana is also easily distinguished from the Channel species by means of its spore. This is almost round, and it has a very long filamentous tail about twenty times the length of the spore itself. It remains very tightly coiled (fig. 23*a*) even during fixation, except in rare cases, when it unwinds (fig. 23*b*). In U. echinocardii, on the other hand, the loosely-coiled filamentous tail with which the spore emerges from the cyst easily unwinds (fig. 27). It is at most seven times the length of the spore itself and the proximal tubular region of the tail tapers much more gradually into the filament. It may be mentioned here that the filament is difficult to see in the living, and if unstained and mounted in Canada balsam it is practically invisible (fig. 29), so that spores appear under these conditions to have a short, tapering tail only.

HOMOLOGY OF THE GAMETES AND ZYGOTES.

In Urospora it seems clear that the flagellated gamete represents the " male " and the non-flagellated the " female." The tail therefore develops from that part of the prozygote which is derived from the "female." It is reasonable to suppose that the disposition of the gametes in these early zygotes of Urospora and Lithocystis is the same. Consequently, in Lithocystis the "female" gamete gives rise to that region of the prozygote from which the tail develops. In fact, the tail appears to be produced by the further growth of the conical projection bearing the centrosome of the original "female" gamete. It may even be suggested that the characteristic tail of these Lithocystis and Urospora spores has been phylogenetically derived from the flagellum originally possessed by the "female" gamete, as it corresponds in position with the flagellum of the " male " gamete.

In Urospora the flagellum of the "male" gamete arises from the region of the centrosome at the apex of the cone. Similar conical projections, with apical centrosomes, have been described in the formation of the gametes of both sexes of various other Sporozoa, e. g. Aggregata (**21b**). The "male" gamete of Lithocystis, in which apparently the flagellum does not develop, has no doubt lost its conical process at an early stage of development, and its centrosome has possibly passed inwards with the nucleus.

SYSTEMATIC.

Below are given the characteristics on which these genera were originally established. It will be noticed that in neither case is any mention made of the movements of the parasites. Other features of the trophozoites of these monocystid Gregarines are of very little value from a systematic point of view. The only given characteristic which is of any use for this purpose is, I think, the filiform tail of the Urospora spores in contradistinction to the tubular ones of Lithocystis. The latter tend to become flattened and easily recognisable, though even here the narrow tubular tail presented by L. microspora approaches that of Urospora, in which the apparently filiform tail has presumably a tubular origin.

It is with a considerable amount of hesitation that I formulate the flagellated nature of the gametes and zygotes among the characteristics of the genus Urospora because I have not had as yet the opportunity of investigating certain forms which have been ascribed to the genus. Some of the results of my search after these are recorded below, and I fully realise that it may be years before gametes and zygotes of all these elusive forms can be found and studied. However, should such flagellated gametes and zygotes be found later not to be constantly present in Urospora and absent in Lithocystis, it seems to me that the latter genus would be superfluous, and that all the five forms described should be included in the older genus Urospora.

Genus Lithocytis, Giard, 1876 (Characteristics given by Labbé) (**12a**, p. 42).—"Individus de grande taille, ovoïdes ou cylindriques avec entoplasm remplie de cristaux clinorhombiques d'oxalate de chaux. Kystes sphériques, spores, longuement ovoides, tronquées à une des extrémités : épispore formant un tube à parois délicates, très allongé et sineux: Toutes les spores sont rangées dans le kyste en groupes, radiarement autour de centres communs (sporozoites 8 ?)."

Emended Characteristics.—Moncystid Eugregarines, with elongated trophozoites continually changing their shape, and containing rapidly flowing protoplasm; cysts spherical, gametes non-motile, slightly anisogamous. Prozygotes motionless, with short tubular tails. Spores when ripe tend to form rosettes. Epispore produced into a funnel at one end, through which the eight sporozoites escape, and into a tubular, but generally flattened, tail at the other.

(1) Lithocystis schneideri, Giard.—Trophozoites may attain a length of 4 or 5 mm. Cysts 1–2 mm. in diameter. Prozygote bi-lobed. Spores generally 22–24 μ long and 8–9 μ wide, with tail about four times this length, but narrower than the spore.

Hosts.—Echinocardium, Naples and Channel, and Spatangus purpureus from the Channel.

(2) Lithcystis foliacea, n. sp.—Trophozoites smaller than L. schneideri; maximum length 2–3 mm. Cysts generally about ·6 mm. in diameter. Zygote top-shaped. Spores about 24 × 9 μ, but their tails are only three times as long, and widen out towards their distal end to form a leaf-like expansion, which may be as much as 15 μ wide.

Hosts.—Echinocardium cordatum, Naples, Plymouth.

(3) Lithocystis microspora, n. sp.—Trophozoites 1 mm., or less, in length. Cysts ·1–·3 mm. in diameter. Zygotes small; spores generally 12–13 μ long and 6–7 μ wide, with tail two to three times this length, narrow, and tapering.

Host.—Spatangus purpureus, Channel.

Genus Urospora (Aimé Schneider), 1875 (**23**).—"Monocystidée de forme allongée, terminée en pointe aiguë en arrière, arrondie en avant et légèrement micronée au pôle supérieur Epicyte à simple contour. Entocyte à grains très-fins.

Kystes à sporulation complète, déhiscents par simple rupture. Spores pourvues d'un appendice immobile, filiform, environ de la longeur de la spore, et inséré sur son extrémité la plus large. Cette spore contenant, à l'état de maturité, six ou sept corpuscles falciformes très-allongés et diversement groupés à son intérieur, offrant en outre un nucleus de reliquat au centre ou à la base des corpuscles."

Emended Characteristics.—Monocystid Eugregarines. Trophozoites elongated, and coarsely granular. Somewhat sinuous movements with slight change of outline. Anisogamy, ♂ gametes with a long flagellum, ♀ non-motile. Early zygotes (Prozygotes) motile retaining flagellum until after beginning of the formation of the tail. Spores with eight sporozoites. The epispore produced into a funnel for the escape of the sporozoites at one end, and at the other into a filamentous tail of varying length.

(1) Urospora neopolitana, n. sp.—Trophozoite small, about 200–300 μ long, and 40 μ wide. Cysts 100–200 μ in diameter. Prozygotes motile retaining flagellum of ♂ gamete until corkscrew-like tail is well developed (fig. 20). Adult spores about 12 μ long and 7 μ wide. Tails about twenty times the length of the spores, but generally tightly coiled (fig. 23).

Host.—Echinocardium cordatum, Naples.

(2) Urospora echinocardii, n. sp.—Trophozoites and cysts indistinguishable from those of Urospora neapolitana. Prozygote flagellated and with a pointed or fusiform tail (figs. 24–26). Spores may be as long as 19 μ. Their tails are six or seven times this length and never form a tight coil as in Urospora neapolitana (fig. 27).

Hosts.—Echinocardium and Spatangus, Plymouth.

OBSERVATIONS ON CERTAIN PARASITES INCLUDED BY LABBÉ AND OTHERS AS UROSPORA.

(1) On the so-called "Urospora sænuridis" (Köll.) from Tubifex. References taken from Labbé (**12a**, p. 43).

1843. Gregarina s., Kölliker (**11** (*a*), p. 12).

1882. Urospora s., Nasse (**21a**, p. 26).
1882. „ „ Bütschli (**3**, p. 557).
1872. „ „ Lankester (**12b**, p. 348).

After studying Kölliker's description and figures I quite agree with Hesse (**10**, p. 43, footnote) that the gregarine there described has no connection with Urospora, but is a Monocystis.

Schneider was apparently the first to suggest that the parasite described by Lankester in 1872 should be included in his new genus Urospora, and Labbé definitely included this form among Urospora without expressing any doubt, and so have other modern authors. Lankester recorded (**12b**, p. 348) that he only found one specimen of Tubifex infected with ripe spores and no doubt purposely refrained from giving any name to the parasite. He, however, pointed out the resemblance to the psorosperms of fish and to this group of Sporozoa (Neosporidia) it undoubtedly belongs. The presence of a tail to the spore probably induced some observers to rush to the conclusion that it was a species of Urospora, but I have no doubt that this rather rare parasite is identical with Myxocystis ciliata described by Mrazek (**20**) from Limnodrilus. The results of studying this parasite, which presents some interesting problems, I hope to publish shortly.

The other two supposed references to this hypothetical species, Urospora sænuridis, can be rapidly dealt with. Nasse's observations (**21a**, p. 26) undoubtedly refer to the neosporidian Myxocystis ciliata, and Bütschli mentioned (**3**, p. 55, footnote) that he had not seen the parasite, but only judged it to be Urospora from Nasse's figures.

Thus this "species" of Urospora may be considered as truly a myth!

(2) Urospora nemertis (Köll.). References taken from Labbé (**12a**, p. 43).

1845. Gregarina n., Kölliker (**11** (*b*), p. 100).
1848. „ „ „ (**11** (*a*), p, 1).
1867. „ „ McIntosh (**16**, p. 38).
1875. Urospora n., Schneider (**23**, p. 597)
? 1893. „ „ Bürger (**1**, p. 208).

So far I have searched without success for this parasite which Schneider said was rare in Valenciennia at Roscoff. Kölliker's gregarine came from Nemertes delineatus (Polia delineata) from Naples. It seems somewhat doubtful, however, judging from his description (**11** (*a*), p. 1) whether he was dealing with Urospora. I have been more fortunate in finding the parasite in Lineus gesserensis (Borlasia olivacea) described by McIntosh in 1867. From this early description alone it is quite clear that it is a very different parasite from Urospora with which, so far as I know, McIntosh has never suggested its affinities. The thick gelatinous cyst (staining bright blue with Nigrosene) separates it clearly, but I have not yet been able to study it fully owing to its rarity. Bürger's parasite, briefly recorded in 1893 (**1**), and again in his monograph of the Nemerteans, 1895 (**2**), is likely to be the same as McIntosh's parasite. In 1896 Gravier (**9**, p. 307) recorded a parasite from a Phyllodocid (Eulalia punctifera, Grube), and this has also been included among the Urospora. It may be of interest to mention in this connection that at Plymouth in September I found a Lineus which had swallowed a whole Phyllodoce nearly as big as itself. It seems to be so very important that records of the natural food of all hosts should be kept if progress with the life-histories of many parasitic protozoa is to be made.

When the spores of U. nemertis are again found it will be interesting to see whether their tails are as short as described and figured. The thin filamentous ends of the tails in Urospora are difficult to see in the living and practically invisible when mounted in Canada balsam unless they have previously been deeply stained. Consequently, spores which have been differentiated to show the contained sporozoite nuclei have the appearance shown in Pl. 8, fig. 29 with only the thick proximal part of the tail at all visible, and this is very similar to Scheider's figure of U. nemertis (**23**, Pl. 21, fig. 4 *a–c*).

(3) U. sipunculi from Sipunculus nudus and U. synaptæ from Synapta inhærens, and S. digitata

are well established species that require much further study.

(4) Urospora lagidis, St. Joseph (**22**); Brasil (**4** and **5**).

Host.—Pectinaria (Lagis) koreni.

From Brasil's interesting description of Urospora lagidis, the gametes seemed to have a great resemblance to those of Lithocystis and as he did not figure the spore I made strenuous efforts to re-obtain the parasite. Six specimens of Pectinaria that were procured from the only collecting ground at Plymouth proved to be uninfected, but nearly all the specimens from Llanfairfechan had a good infection and from them I have been able to obtain other stages besides spores. These have been studied chiefly in a living condition, whereas Brasil studied fixed material.

The milk-white trophozoites can be seen through the body-wall of living Pectinaria roaming about in the cœlom and encysted specimens form spheres about 1 mm. in diameter which are generally carried forwards towards the oral end of the host. Here, as they ripen, they gradually become massed together connected by the amœbocytes on their surfaces and often suspended from some of the viscera or the body wall.

The spore (Pl. 8, fig. 30) proved to have a tail much more like that of Lithocystis than Urospora. At its other end there is a deep funnel (not two spines as previously described). I have not, so far, been fortunate enough to obtain living gametes, but the zygotes that have been met with several times have been quite motionless.

All these details point to the fact that the Pectinaria parasite should be regarded as Lithocystis rather than Urospora. I would not venture, however, to make this alteration without the most conclusive evidence, and for this, as pointed out on p. 95, it will be necessary to study not only the living gametes of this species, but also those of U. nemertis, U. sipunculi, and U. synaptæ.

SUMMARY.

(1) The sporozoa of Spatangoids, previously referred to Lithocystis schneideri, Giard, include at least five species. In addition to Giard's original species of Lithocystis it has been necessary to establish two others, namely, L. foliacea, n. sp., and L. microspora, n. sp. Further, the genus Urospora is also represented by two species which have not been recorded before, namely, U. neapolitana, *n. sp.*, from Naples, and U. echinocardii, n. sp., from Plymouth. On the other hand, it has been shown that there is no such species as "Urospora sænuridis," which has been ascribed to Tubifex by some authors.

(2) The instances of so-called "solitary encystment," of which Lithocystis is quoted in text-books as furnishing a clear case, are shown not to be normal stages at all, but necrotic specimens attacked by the phagocytes of the host.

(3) In both Lithocystis and Urospora there is intercalated a stage—Prozygote—in which the cytoplasm of the gametes has fused and the tail of the spore has appeared, but the nuclei have not yet combined to form the synkaryon of the true zygote.

(4) In Urospora, both the "male" gamete and the prozygote are flagellated and motile.

October, 1914.

REFERENCES.

1. Bürger, Otto.—"Sudgeorgische und andere exotische Nemertinen," 'Zool. Jahrb. Syst.,' vii, 1893, p. 208, t. 9, figs. 17, 17*a*.

2. ——— "Nemertinen," 'Fauna und Flora des Golfes von Neapel Monographie,' xxii, 1895.

3. Bütschli, O.—"Sarkodina und Sporozoa," Bronn's 'Klassen und Ordnungen des Thier-reichs : I Protozoa,' 1880-82, p. 557, note.

4. Brasil, L.—" Contrib. à la Connaissance de l'appareil digestif des Annélides Polychètes (l'epithélium intestinal de la Pectinaire)," 'Arch. Zool. Expér.,' (4), ii, 1904, pp. 215–225.

5. Brasil, L.—"Recherches sur la Reproduction des Grégarines Monocystidées," 'Arch. Zool. Expér.," (4), iii, 1905, pp. 17–38.

6. Cuénot, L.—"Recherches sur l'évolution et la conjugaison des Grégarines," 'Arch. de Biol.,' xvii, 1901.

7. Doflein, F.—'Lehrbuch der Protozoenkunde,' Jena, 1911.

8. Giard, A.—"Sur une nouvelle espèce de Psorospermie (Lithocystis Schneideri) parasite de l'Echinocardium cordatum," 'C.R. Ac. Sc.,' lxxxii, 1876, pp. 1208–1210.

9. Gravier, C.—"Recherches sur les Phyllodociens," 'Bull. Sc. France et Belg.,' xxix, 1896, p. 307, t. 25, figs. 18 and 19.

10. Hesse, E.—"Contribution à l'étude des Monocystidées des Oligochètes," 'Arch. Zool. Expér. et Gen.,' iii, 1909, pp. 27–301.

11. Kölliker, A.—"Beitrage zur Kentniss niedere Thiere," (*a*) 'Zeits f. wiss. Zool.,' i, 1848. p. 1, t. 1, fig. 4*b*; (*b*) 'Zeits. f. wiss. Botanik,' i, 1845, pp. 46–103, no figures.

12a. Labbé, A.—'Sporozoa' in 'Das Thierreich,' lief 5, Berlin (Friedlander), 1899.

12b. Lankester, E. Ray.—"Remarks on the Structure of the Gregarinæ and on the Development of G. (Monocytis) Sipunculi (Köll.)," 'Quart. Journ. Micr. Sci.,' 12, 1872, pp. 342–351.

13. Léger, L.—"Lithocystis schneideri," 'C.R. Ac. Sc.,' cxxiii, 1896, pp. 702–705.

14. ——— "Contribution à la Connaissance des Sporozoaires . . .," 'Bull. Sci. Fr.-Belgique,' xxx, 1897, pp. 240–264.

15. ——— "La Reproduction sexuée chez les Stylorhynchus," 'Arch. Protistenkunde,' iii, 1904, p. 303.

16. McIntosh, W. C.—"On the Gregariniform Parasite of Borlasia," 'Trans. Micros. Soc. Lond.,' xv, 1867, pp. 38–41.

17. Minchin, E. A.—'The Sporozoa : a Treatise on Zoology' (Lankester). London : A. & C. Black, 1903.

18. ———'An Introduction to the Study of the Protozoa.' London : Arnold, 1912.

19. Mourson, J., and Schlagdenhauffen, F.—"Sur la Composition du Liquide Cavitaire des Oursins," C.R. Ac. Sc., xcv, 1882, p. 791.

20. Mrazek, A.—"Sporozoenstudien. Zur Auffassung der Myxocystiden," Arch. Protistenkunde, xviii, pp. 245–259.

21a. Nasse, D.—"Beitrage sur Anatomie der Tubificiden," Inaug. Diss. Bonn., 1882.

21b. Pixell-Goodrich, H. L. M.—"The Sporogony and Systematic Position of the Aggregatidæ," 'Quart. Journ. Micr. Sci.,' 60, pt. 1, pp. 159–174, 1914.

22. St. Joseph, Baron de.—"Les Annélides polychètes des côtes de la France," 'Ann. Sci. Nat. Zool. and Paléont.' vii, 1898.

23. Schneider, Aimé.—"Contributions à l'histoire des Grégarines des Invertébrés de Paris et de Roscoff," 'Arch. de Zool. expér.,' iv, 1875, pp. 493–604.

24. Siedlecki, M.—"Ueber die Geschlechtliche Vermehrung der Monocystis ascidiæ," 'Anz. Akad. Wiss. Krakau,' 1899.

25. ——— "Quelques observations sur le rôle des Amibocytes dans le cœlome d'un Annélide," 'Ann. l'Instit. Pasteur,' xvii, 1903, pp. 449–460.

EXPLANATION OF PLATE 8,

Illustrating Mrs. Helen L. M. Pixell-Goodrich's paper on "The Life History of the Sporozoa of Spatangoids with Observations on some Allied Forms."

[Unless otherwise stated, the parasites figured came from Echinocardium cordatum, Naples. Preparations were stained with iron-hæmatoxylin and drawn at an approximate magnification of 2000, except where otherwise indicated.]

Fig. 1.—Lithocystis schneideri rounding itself off and still unattacked by amœbocytes. Drawn from the living. × 16.

Fig. 2.—Female gamete of L. foliacea stained Carm Alum.

Fig. 3.—Male gamete of L. foliacea stained Carm Alum.

Fig. 4.—Uniting gametes of L. foliacea stained Carm. Alum.

Fig. 5.—Prozygote of L. foliacea.

Fig. 6.—True zygote of L. foliacea after the formation of the Synkaryon.

Fig. 7.—Uninucleate sporoblast of L. foliacea. × 1000.

Fig. 8.—Adult spore of L. foliacea. × 1000.

Fig. 9.—Prozygote of L. schneider, living specimen.

Fig. 10.—Prozygote of L. schneideri from Spatangus purpureus, Plymouth. Drawn from the living.

Fig. 11.—Later stages of L. schneideri showing the proximal ends only of tails; (*a*) Prozygote and (*b*) true zygote, after the formation of the synkaryon. × 1000

Fig. 12.—Sporoblast of L. schneideri. × 1000.

Fig. 13.—Spore head with sporozoites and refringent residuum. Drawn from the living. × 1500.

Fig. 14.—Adult spore of L. schneideri. × 1000.

Fig. 15.—Adult spore of L. microspora from Spatangus, Plymouth.

Fig. 16.—Zygote of L. microspora from Spatangus, Plymouth.

Fig. 17.—Trophozoite of U. echinocardii from Spatangus, Plymouth. × 160.

Fig. 18.—Encysted associates of U. neapolitana (*a*) ♀ with large nuclei; (*b*) ♂ with small, more chromatic nuclei. × 260.

Fig. 19.—Flagellated gamete (♂) of U. neapolitana. Drawn freehand from the living by E. S. G. Magnification slightly over 2000.

Fig. 20.—Flagellated Prozygote of U. neapolitana. Drawn similarly to fig. 19.

Fig. 21.—Zygote of U. neapolitana after loss of flagellum.

Fig. 22.—Uninucleate sporoblast of U. neapolitana.

Fig. 23.—Adult spora of U. neapolitana (*a*) with tail tightly coiled; (*b*) with tail partly uncoiled.

Fig. 24.—Living Prozygote of U. echinocardii from Echinocardium, Plymouth.

Fig. 25.—Living prozgote of U. echinocardii (?) Spatangus, Plymouth.

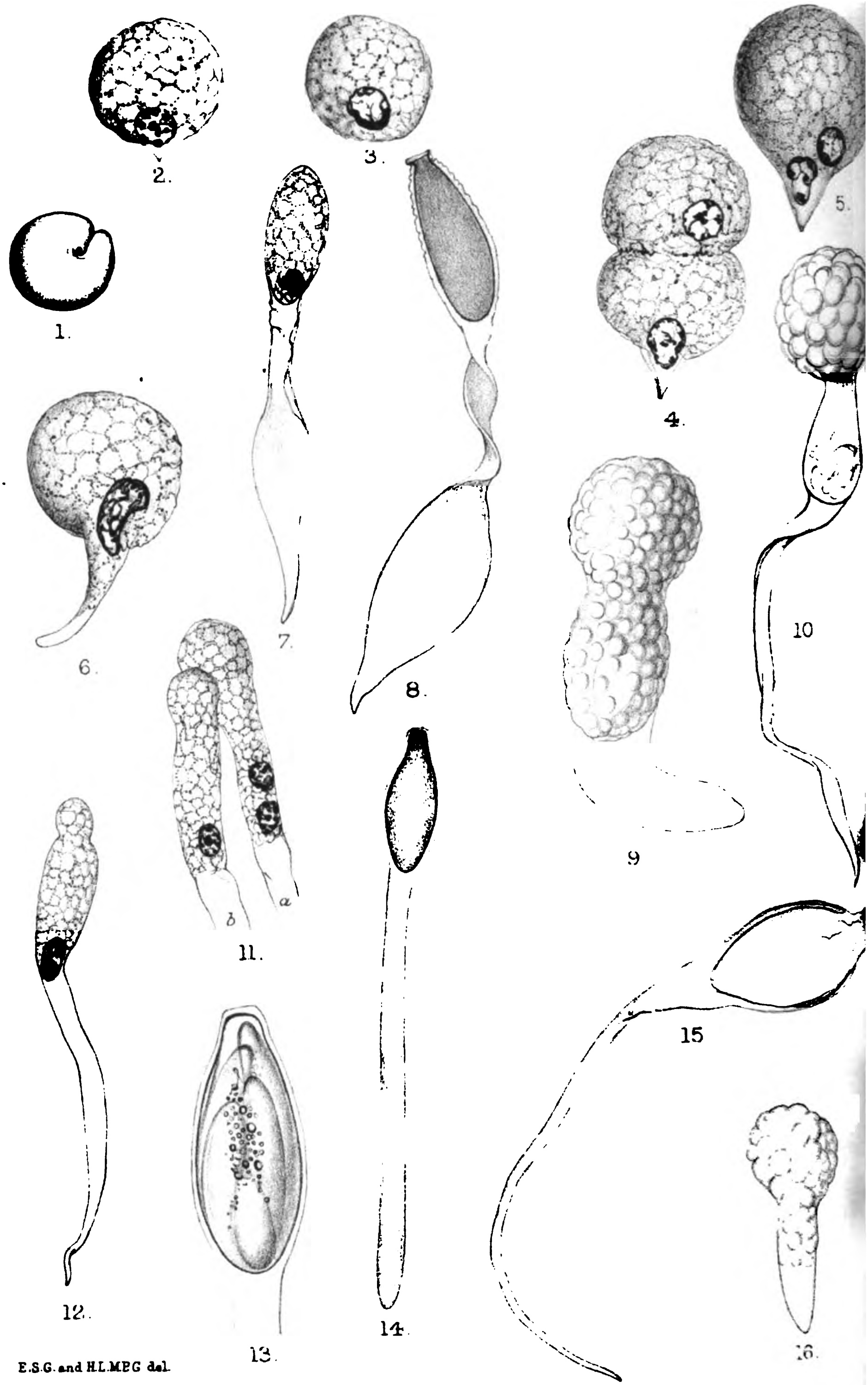
Fig. 26.—The same Prozygote, showing nuclei not fused; stained iron hæmatoxylin and Orange G.

Fig. 27.—Adult spore of U. echinocardii from Echinocardium, Plymouth.

Fig. 28.—Sporoblast of U. echinocardii from Spatangus, Plymouth, stained iron hæmatoxylin and Orange G.

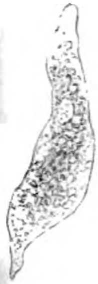
Fig. 29.—Young spore of U. echinocardii with four nuclei; from Spatangus, Plymouth.

Fig. 30.—Ripe spore of Urospora lagidis from Pectinaria (Lagis) koreni.

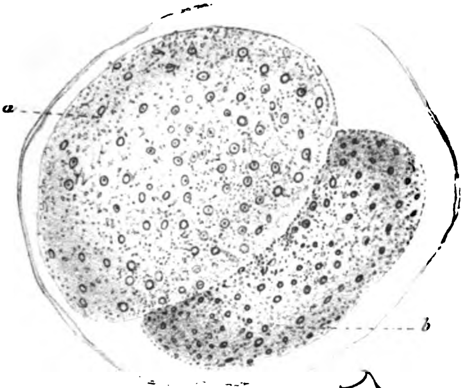


E.S.G. and H.L.M.P.G del.

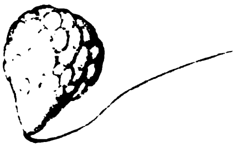
LITHOCYSTIS.



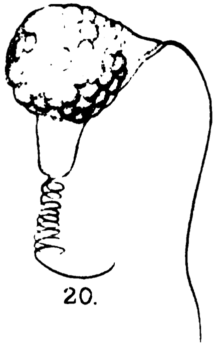
17.



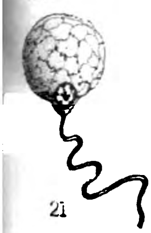
18.



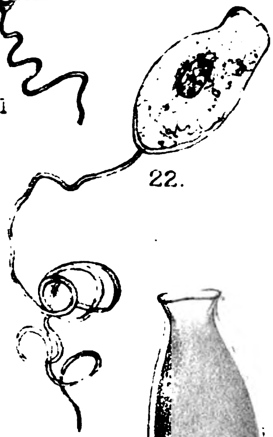
19.



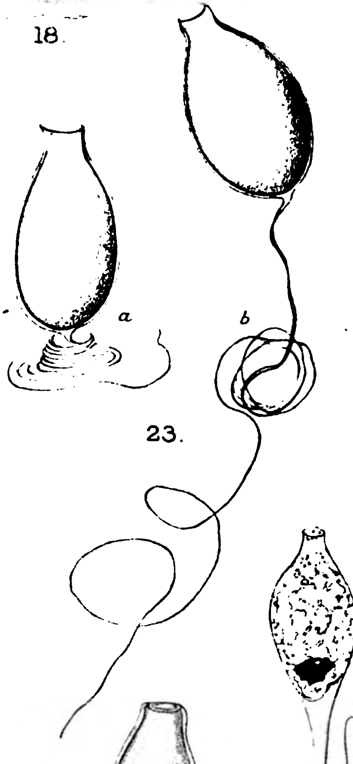
20.



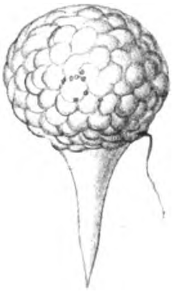
21



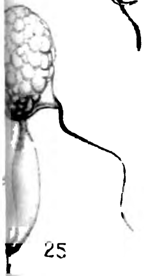
22.



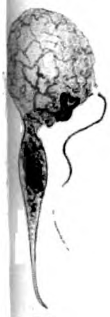
23.



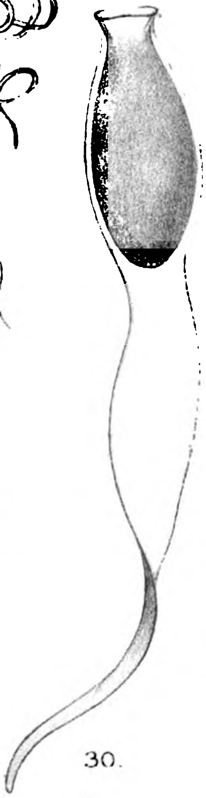
24.



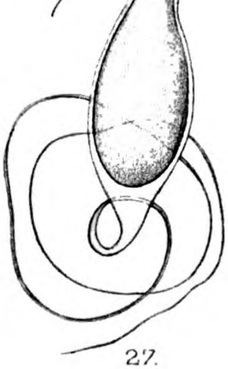
25



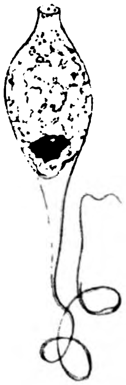
26.



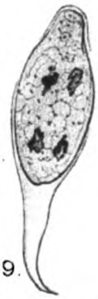
30.



27.



28.



29.

Huth, London

UROSPORA.

Pixell-Goodrich, H.L.M.
1920.

H.-L.-M. Pixell-Goodrich. — The spore of *Thelohania (avec 2 fig)* ....

10

Parasitic Protoz

Archives de Zoologie Experimentale
et Générale. Tome 59, no 1, 1920.

V

THE SPORE OF THELOHANIA

PAR

HELEN L. M. PIXELL GOODRICH
D. Sc. Lond.

Reçu le 23 février 1920.

A prawn, *Leander* (*Palaemon*) *serratus*, which I observed in the acquarium tanks at Plymouth last January, had opaque white muscles and seemed obviously infected with *Thelohania octospora* as described by **HENNEGUY** and **THÉLOHAN** (1888, 1892, 1894). On teasing the infected muscle however and examining the parasite in sea water great was my astonishment to find that each of the spores was provided with three long tails (figs I et II). These tails are delicate prolongations of the epispore as found in many Haplosporidia. Inside the sporocyst they are curled round the spores and take up a considerable amount of space. This fact doubtless accounts for the interesting observation recorded by **HENNEGUY** and **THÉLOHAN** (1892, p. 630), that the refringent spores only occupy part of the cyst in *Th. octospora*. When the sporocyst is only ruptured at one spot a tuft of tails from the enclosed 8 spores often projects through the fissure.

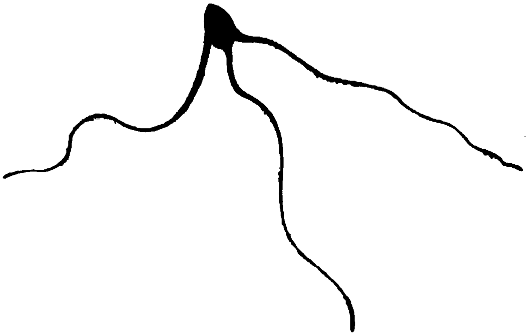


FIG. I. Spore of *Thelohania* drawn from the living at an approximate magnification of 2.000, showing the three tails.

The sporocysts are about 8 μ in diameter and most of the fresh spores are only 3 μ long according to my measurement, though occasionally macroscopores up to 5 or 6 μ are to be found. The tails are about 20 μ long (figs I and II), flattened out proximally but tapering to very fine ends. They show up more clearly when dilute Iodine solution is run into the preparation and occasionally the polar filament is shot out from the opposite end (fig. II). This thread is of uniform diameter throughout its length of 30-40 μ, thereby differing from the tails which are wider proximally. Ordinary blue black ink is an excellent stain for showing up the delicate tails of these spores as was found also for *Lithocystis* and *Urospora* (Pixell Goodrich, **1915** *a*). Iron haematoxylin also stains the tails but is very easily washed out of them with iron alum solutions, and they only show faintly, if at all, after using the ordinary counter stains. Consequently in differentiated films mounted in a refractile medium such as Canada balsam, the tails are practically invisible. Similarly they stain so faintly with Giemsa's mixture, even after many hours, that they are again very easily overlooked. These facts account perhaps for their not having been described by earlier observers, for there can be no doubt, I think, that the parasite is *Thelohania octospora*. One wonders whether possibly there may not be tailed spores in some other species of *Thelohania*, or even in other Microsporidia. Anyhow this is, I believe, the first recorded instance of a tailed spore occurring among true Microsporidia and furnishes another point of resemblance between these parasites with minute spores provided with a polar filament and the family *Haplosporidiidae* (Caullery and Mesnil **1905**) many members of which have tailed spores but never a polar filament. This resemblance supports Debaisieux's conclusion from his recent cytological work on *H. chitonis* (**1919**, p. 1401), that the genus *Haplosporidium* should be included in a sub-order of the Microsporidia. No doubt he is right too in pointing out the great likeness between the genera *Minchinia* and *Haplosporidium*, and in wishing to get rid of the former. Not having studied the other species of *Haplosporidium* at first hand when I wrote the paper to which he refers (**1915** *b*) I did not feel myself called upon to eliminate the genus *Minchinia* named in honour of the late Professor Minchin to whose inspiration I owed so much when starting work on the Protozoa.

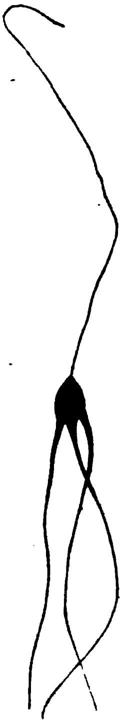


Fig. II. The same after treatment with Iodine and ink showing the polar filament extruded from the opposite end from the tails.

As regards the life history of *Thelohania,* I fear that I can add nothing of importance. The sections and films examined show the parasite entirely in the spore stage. The sporocysts easily burst liberating the eight spores as described above. The infected prawn was in a large tank with several lobsters and many other prawns and shrimps and, although nearly all its muscles were affected, it managed to preserve a certain amount of agility. No other prawn from the acquarium could be found to have any trace of infection either in its muscles or blood.

When put for observation into a smaller tank containing a few fish, a blenny (*Blennius*) darted out from behind a mass of serpulid tubes and bit the abdomen almost in two. Feeding experiments could not be carried out, however, owing to pressure of other work, and there is no reason to think that the ripe spores would not pass through a blenny unchanged, as did those of *Haplosporidium* (*Minchinia*) *chitonis* (PIXELL GOODRICH 1915 *b*). HENNEGUY and THÉLOHAN (1888, 1892) have already shown that muscle from a prawn infected with *Thelohania octospora* can be eaten by healthy prawns without transmitting the infection to them for periods of a month or more.

University Museum Oxford, February 1920.

BIBLIOGRAPHY

1905. CAULLERY (M.) et MESNIL (F.). Recherches sur les Haplosporidies. (*Arch. Zool. Exper. et Gen.*, IV, pp. 101-181.)

1919. DEBAISIEUX (P.). Quelques Protozoaires parasites des Chitons et des Patelles. (*Compt. rend. Soc. Biol.*, 82, pp. 1400-1402.)

1888. HENNEGUY (F.). Contribution à l'étude des Sarcosporidies ; note sur un parasite des muscles du Palaemon. (*Mém. Soc. philomath. Paris à l'occas. Centen. Fondation*, pp. 163-171.)

1892. HENNEGUY (F.) et THÉLOHAN (P.). Myxosporidies parasites des muscles chez quelques crustacés décapodes. (*Annal. de Microgr. Paris*, IV, pp. 617-639.)

1915. PIXELL GOODRICH (H.-L.-M.). On the Life-history of the Sporozoa of Spatangoids, with observations on some Allied Forms. (*Quart. Journ. Micros. Sc.*, 61 pp. 81-104.)

1915 *b*. PIXELL GOODRICH (H.-L.-M.). *Minchinia* : A Haplosporidian. (*Proc. Zool. Soc. Lond.*)

1894. THÉLOHAN (P.). Recherches sur les Myxosporidies. (*Bull. Sc. France et Belg.* 26, pp. 103-394.)

ll-Goodrich
14

1.1

THE SPOROGONY AND SYSTEMATIC POSITION OF THE AGGREGATIDÆ.

By HELEN L. M. PIXELL-GOODRICH, B.Sc.

Reprinted from 'The Quarterly Journal of Microscopical Science,'
Vol. 60, Part 1, April, 1914.

The Sporogony and Systematic Position of the Aggregatidæ.

By

Helen L. M. Pixell-Goodrich, B.Sc.,
Beit Memorial Research Fellow.

With Plate 13.

THE very noticeable parasites infesting the alimentary canal of many Cephalopods were recorded by Eberth (**3**) so long ago as 1862. The genus comprising these forms has suffered many changes of nomenclature. In 1875 it was named Benedenia by Schneider (**21**, Note xiii, p. xl) to include B. octopiana from the octopus, and this generic name was employed so late as 1900 by Schaudinn (**20**, p. 203). In Schneider's second paper (**22**) in 1883 the parasite was referred to throughout as Klossia instead of Benedenia, as the author stated that he was convinced that the two genera could not be distinguished. In this Siedlecki followed him in his two papers of 1898 (**23** and **24**) on the parasites of Sepia, which he considered to be identical with those of the octopus, although he found only three or four sporozoites in a sporocyst, whereas Schneider had described eight to fifteen in Klossia octopiana, and Labbé had already given the specific name of K. eberthi (**7**) to the species inhabiting Sepia. In a footnote to his second paper, however, Siedlecki (**24**, p. 800) stated that after seeing Laveran's work on K. helicina he thought the original name of Benedenia should be readopted. It was then discovered that this name had in 1858 been appropriated for a Trematode genus, therefore Blanchard, in 1900, altered it to Légeria. Jacquement (**5**) in 1903 pointed out that this had been already applied to a polycystid Gregarine, and again changed the name to Légerina. This, however, was never used; for, in the previous year, after Siedlecki had stated that, like the so-called Eugregarines, these parasites did not appear to undergo Schizogony, the genus had been called Eucoccidium by Lühe (**11**). By this generic name the parasites were generally known until, in 1906, the excellent researches of Leger and Duboscq (**8** and **9**) showed that the schizogony, which had been supposed to be absent from the life-history of the genus, took place in the Crab, Portunus, where Frenzel (**4**) had described it in 1885 as a Gregarine under the name of Aggregata; this name is therefore now universally applied to the genus which I hope to prove is undoubtedly Coccidian in character as assumed by Siedlecki. Moroff (**15**) in 1906 claimed to have shown that the fertilisation was of the gregarine type; that is, that the macrogametocyte gave rise before fertilisation to a number of small cells, and that these were the true macrogametes, each of which gave, after fertilisation, a single spore. In 1908, in a later work of great length, Moroff (**16**) admitted that he might have been mistaken in his description of the process of fertilisation, and no longer insisted on these parasites being Gregarines, stating that further investigations were necessary. It was for this reason that, at Prof. Minchin's suggestion, I undertook this study of Aggregata, which has extended over some years. During this time I have examined Cephalopods, chiefly Sepia, from Plymouth, the Solent, and more recently from the Mediterranean in the neighbourhood of Banyuls-sur-Mer. To the authorities and staff, especially to the Director, Prof. Pruvot, of the Laboratoire Arago, I should like to express my thanks for their hospitality and assistance; also to Prof. Minchin, not only for suggesting such an interesting subject for investigation, but for much kind help given me during the years that I have been privileged to work in his Department at the Lister Institute. Since last October the work has been carried on in Oxford, and I am much indebted to

Prof. G. C. Bourne for the kind interest he has shown in the progress of the investigations, and for allowing me the use of a laboratory in his department. My husband, Mr. E. S. Goodrich, has also given me much advice and assistance.

As pointed out above, Aggregata octopiana of the octopus and A. eberthi of Sepia have long been known, but in addition to these, Moroff (**16**, p. 144) claims to have distinguished some eight or nine more species in Octopus and five in Sepia. The distinguishing characteristics given, being chiefly those of size, are not at all conclusive, and, so far as my observations go, I have been unable to corroborate their existence.

According to Léger and Duboscq (**10**) A. eberthi can undergo its schizogony in Portunus arcuatus and P. holsatus as well as in P. depurator (**10**, p. 90 et seq.), but not in P. puber. L. Their attempts to infect other Crustacea, such as Inachus dorsettensis, Carcinus maenas, etc. (**10**, p. 95), failed, although some of these, for instance, Inachus dorsettensis, are sometimes found in nature infected with a species of Aggregata (Smith, **19**). Possibly the natural cephalopod host of the latter is an octopus; it does not, at any rate, seem to be Sepia officinalis. Many experiments such as these appear to me to be necessary before we can hope conclusively to distinguish different species of Aggregata, the possible existence of several of which I am not prepared to deny.

MATERIAL AND TECHNIQUE.

It is very essential to have the material quite fresh, and in this connection a method of killing Cephalopods so as to eliminate the difficulty of dealing with the emission of ink may be of interest. This is to slip a loop of fine, though strong string round the head just above the mantle, and suddenly to pull the ends very tightly. In this way the animal is immediately strangled—the general paralysis being too quick to allow time for any ink to be thrown out, and at the same time quantities of blood are left in the heart and may be drawn off to be used as a mounting medium if required.

All Sepia officinalis, whether from Plymouth, the Solent or Banyuls, have been found to be infected: but none of the numerous specimens of Sepia elegans, which occurred in quantities near Banyuls-sur-Mer, had any infection during September, neither had the Eledone and Loligo that were examined.

Both Sepia officinalis and Eledone from Banyuls were almost universally infected with the Cestode Scolex polymorphus, the occurrence of which has already been recorded by Monticelli (**14**) from Naples. In Sepia officinalis the region of the alimentary canal most infected was the spiral stomach between the entrance into the muscular stomach and the longitudinal ridges which run up into the rectum. The latter chiefly contained large cysts, which, being somewhat over one millimetre in diameter, were quite visible to the naked eye. For examination in the fresh state some of the tissue from the spiral stomach was teased out, in sea-water as a general rule, though sometimes intestinal fluid or blood were found to be preferable. Films and portions of the spiral stomach were fixed in Schaudinn's fluid, ordinary corrosive sublimate and acetic acid, or mixtures of the latter with equal quantities of 4 per cent. formalin—this last perhaps giving on the whole the best results. Iron hæmatoxylin was by far the most satisfactory nuclear stain. Ehrlich's and Delafield's hæmatoxylin mixtures were also used, as well as paracarmine, borax carmine and many cytoplasmic stains, such as Lichtgrün and picric acid, eosin or orange G.

VEGETATIVE STAGES.

Since Léger and Duboscq (**10**), Moroff (**16**), and others have already given excellent figures of merozoites, trophozoites, and sporozoites, we can begin our study with the adult trophozoite ripe for reproduction. At this stage there is certainly a delicate limiting membrane present—a fact denied by Siedlecki (**24**, p. 804),—also a large vesicular nucleus, containing, as a rule, a single large karyosome. In some cases the cytoplasm contains large irregular masses, which stain intensely with iron-hæmatoxylin and other chromatin stains. These would seem to be metabolic products of the cytoplasm, such as Comes (1) has described in Stenophora, rather than of nuclear origin, and to bear no obvious relation to the processes of reproduction described below. Smaller particles of more uniform size, probably of similar nature, are usually scattered throughout the cytoplasm. The ripe trophozoites vary enormously in size, the longer diameter of some reaching 400 μ, while others may be only about 50 μ; and, since all intermediate dimensions can be found, it does not seem possible to distinguish several species, either in this or subsequent stages, by size alone. Therefore I cannot support Moroff's conclusions on this point (**16**, pp. 146 and 147).

FORMATION OF THE GAMETES.

While the distinction between males and females becomes very pronounced later on, it is extremely difficult to trace the differences back to the trophozoite stage. However, individuals which are to become females appear, on the whole, less dense, and have their cytoplasm more vacuolated than those destined to be males. The females also as a rule grow to a larger size. After a considerable resting period at the completion of growth the early stages leading up to the formation of the gametes are gone through very rapidly.

In the female there is, first, a migration of the nucleus towards the surface, from which, however, it remains separated by a plug of dense, finely granular protoplasm, which gives off radiations, spreading in all directions through the cytoplasm (fig. 1). The central part of this protoplasmic plug rises up on the surface, forming a cone of attraction, and, after entrance of the microgamete, appears to sink in again, carrying the male chromatin with it (figs. 2 and 3).

In the male the nucleus also approaches the surface and rapidly divides by a peculiar method of mitosis. A centrosome with distinct astral radiations apparently emerges from the nucleus at the beginning of the process, and undergoes repeated division before the nucleus becomes subdivided. These centrosomes, with their conspicuous asters, spread over the surface of the microgametocyte, giving rise to such polymitotic figures as those given by Moroff (**16**, fig. 50, pl. vi). In the meantime the nucleus becomes irregularly lobed, the lobes growing out in various directions towards the asters. The peripheral lobes eventually become constricted off as separate nuclei, into which the greater part of the chromatin has migrated. At a later stage the nuclei, containing deeply staining chromatic networks, are found evenly distributed over the whole surface. Throughout this process the centrosomes and asters take up a position between the nuclei and the surface of the gametocyte. The peripheral nuclei continue to undergo repeated binary division, preceded in every case by the division of the centrosome and aster. As the nuclei become more numerous the surface at their disposal is increased by the formation of rounded lobes, which gradually become nipped off as separate spheres, covered with developing microgametes (fig. 13). A fully developed male generally consists of several such spheres, sometimes as many as six or seven. The nuclear divisions described above are very similar to those which take place in the formation of the sporoblasts in the zygote, and this fact may have contributed in some measure to Moroff's unfortunate mistake in thinking that these sporoblasts represented the macrogametes and were separately fertilised. It is not clear which process some of his figures are intended to represent; but his figs. 53 and 55 (**16**, pl. vii) appear to me to be stages in the formation of microgametes. The differences to be observed between them will be again referred to (p. 168) after the description of the formation of the sporocytes.

Siedlecki described the nuclear division of the male as taking place by a process of chromidial fragmentation (**24**, p. 815), such as has been described in other Coccidia. This error may, I think, be partly ascribed to the fact that he worked chiefly with films, which he stated (**24**, p. 801) that he found to be better than sections. I, on the contrary, have found that, owing to the large size and great density, especially of the male gamete, it is practically impossible to make out the very rapid nuclear changes which take place at the beginning of the process without studying an extensive series of sections.

The chromatin of the developing microgametes becomes more and more concentrated until the nucleus is reduced to a small, densely staining mass. This, surrounded by a certain amount of cytoplasm, projects on the surface of the microgametocyte and becomes elongated, carrying the centrosome at its distal extremity. The microgamete now becomes more and more elongated, the nucleus lengthens out, and the stalk connecting it with the residual sphere of cytoplasm becomes drawn out to form the tail region. Two flagella make their appearance at the free end, and the microgamete gradually assumes its fully developed form.

The mature microgametes during life measure about 40 μ in length, which is very much the same as the fixed ones (fig. 11). These lengths do not, of course, include the flagella, which are generally considerably more than half the length of the body of the microgamete. The latter is strap-shaped, with a more or less cork-screw nucleus running through the anterior half. This, at any rate, appears to be the form that the nucleus takes during the phase at which it emerges from the microgametocyst.

It may be of interest to recall that a spiral nucleus has also been recorded in Trypanosoma brucei (Robertson **18**, p. 236) and in the so-called male forms of T. lewisi described and figured by Prowazek (**17**, figs. 35 and 36). In some cases I have observed a faint wavy line extending along the tail, but, except for this, there is no sign of an undulating membrane. In front of the nucleus and at the base of the flagella are situated the granules, which I take to be blepharoplasts. In deeply stained specimens they frequently appear as one large granule. These basal granules are apparently derived from the original centrosome of the younger stage. During this time the limiting membrane surrounding the male gametocyte becomes considerably thicker. The male individual therefore becomes enclosed in a distinct cyst, which is, however, thinner than that in the female. At an early stage the gametocyte shrinks away from the cyst-wall, becoming separated from it by fluid in which it is suspended, while the microgametes develop on its surface (fig. 13). The cyst is sufficiently resistant to be dissected out of the host tissue, and the microgametes, after the development of their flagella, have been observed actively swimming about inside. Upon the rupture of this cyst they swarm out, but I did not succeed in making them retain their activity for any length of time, although many different media were employed for mounting them, including Sepia, blood and intestinal fluid, as well as ordinary sea-water and saline of varying densities. On this account it was not easy to make out the details of their movement, but flagella could be seen being vigorously lashed in front, and, in addition, the flattened, somewhat expanded tail was used in propulsion.

FERTILISATION.

In the fresh state numerous microgametes have been observed crowded round a macrogamete, but only one appears to enter. This it does by the cone of attraction, and on reaching and penetrating the female nucleus its chromatin rounds itself off into granules, as shown in figs. 2 and 3. Moroff's figures (**16**, pl. xi, fig. 91, and text-figs. M_1 and M_2) doubtless represent this stage, although he failed to discover the true meaning, as he was convinced that fertilisation was of the Gregarine type. The macrogamete nucleus has assumed an oval or pear-shaped form by the time the microgamete enters. A network of spindle threads appears running irregularly along the long axis of the nucleus from the point of entrance of the microgamete to the opposite pole. Meanwhile the karyosome undergoes changes. The chromatic substance emerges from the micropyle as a stream of spherules which arrange themselves along the spindle threads. In some cases strings of granules can be seen inside the karyosome and coming from it; possibly the spindle threads themselves arise in this way. Somewhat similar irregular spindles have been described in other Coccidia; for example, in Coccidium proprium by Siedlecki (**25**) and in Orcheobius herpobdellæ by Kunze (**6**), and no doubt the nuclear fibres figured by Moroff (**16**, pl. iii, fig. 16, and text-fig. N. 2) are of the same nature.

The granules of male chromatin which have become lodged at the superficial end of the nucleus stream inwards, and presumably mingle with the granules of female chromatin on the spindle threads: fertilisation is thus accomplished.

Directly after the entrance of the microgamete a resistant cyst appears round the zygote, which thereupon contracts and comes to lie freely suspended in fluid. A similar contraction has been described as taking place in Coccidium proprium (**25**), but in this species the oocyst is formed quite early, and a micropyle is left for the entrance of the microgamete.

SPOROGONY.

After fertilisation, upon the break-up of the spindle, the nucleus of the zygote becomes reconstituted, and this synkaryon undergoes mitosis. A centrosome and aster make their appearance on the outer side of the nucleus: they divide, and their daughter-centrosomes and asters separate, accompanied by lobes of the synkaryon, into which passes the chromatin, arranged on spindle fibres in the form of irregular loops (fig. 10). The first few nuclear divisions follow one another in such quick succession that, before the chromatin threads of one spindle have completely separated, the centrosomes have again divided, and the next pair of spindles are being formed approximately at right angles to the preceding one, as shown in fig. 10, where the large asters so generally to be seen are also figured. In this way an extensively branching nucleus is formed, the central region only disappearing at a later stage.

This peculiar form of mitosis in the fertilised female may be considered as intermediate between ordinary mitosis and the polymitosis described above in the male. In the latter the nucleus lags so far behind the centrosomes in its division, and so disturbs the sequence of events, that the connection between the division of the two organs is obscured or lost. Moroff (**16**) has already given numerous beautiful figures of these stages.

After repeated division of the centrosomes and asters large daughter-nuclei with numerous small faintly staining granules are constructed off near the surface (fig. 12). The stage with about twenty to fifty of these is a commonly occurring one, and would seem to indicate a somewhat prolonged resting period. It can generally only be distinguished from the corresponding resting stage in the formation of the microgametes by the larger size and lesser affinity for chromatin stains exhibited by its nuclei. The large early sporoblast nuclei contain, as a rule, small evenly distributed granules of chromatin only, whereas the small early male nuclei have large deeply staining masses, or threads, of chromatin.

This resemblance between the early stages of division in the microgametocyte and those in the zygote is of considerable interest, since it seems to support the view that the two processes correspond to one another, and that not only is the macrogamete of the female homologous with the microgametocyte of the male, but also that the microgamete of the male corresponds to the sporoblast of the female.

Further, whereas in Gregarines the adult female gives rise to small cells (macrogametes) which become separately fertilised and then form the zygotes (sporoblasts), in the Coccidia the adult female gives rise to the small cells (sporoblasts) after fertilisation. Thus the chief difference between the processes of sporogony in the two groups is that fertilisation takes place at an earlier stage in Coccidia than in Gregarines. This could be shown in tabular form as follows, the arrow representing fertilisation :

Coccidia.

$$\begin{tikzcd}
\text{♀ trophozoite} \arrow[r] & \text{macrogamete} \times n \text{ sporoblasts} \arrow[r] & n \text{ sporocysts} \times mn \text{ sporozoites.} \\
\text{♂ trophozoite} \arrow[r] & \text{microgametocyte} \times n \text{ microgametes.} \arrow[u] &
\end{tikzcd}$$

Gregarines.

$$\begin{tikzcd}
\text{♀ trophozoite} \arrow[r] & \text{macrogametocyte} \times n \text{ macrogametes} \arrow[r] & n \text{ sporocysts} \times mn \text{ sporozoites.} \\
\text{♂ trophozoite} \arrow[r] & \text{microgametocyte} \times n \text{ microgametes.} \arrow[u] &
\end{tikzcd}$$

Cuénot, in 1901 (**2**, p. 632), remarked that fertilisation was tardy in Gregarines and precocious in Coccidia, but refused to commit himself to a homology of the various steps. The evidence I have given above is, however, in agreement with the theory put forward by Minchin (**12**, pp. 271–274) in 1903 as to the homologies that exist between the gametes of Coccidia and those of Gregarines, namely, that the sporoblasts of Coccidia (formed by the division of the zygote after fertilisation) "may be compared to those of Gregarines by supposing that the process of multiplication, by which the gametocyte of the Coccidia gave rise primitively to a number of female gametes, has not been completely suppressed, but merely deferred until after the process of zygosis" (**12**, p. 272). The same theory is again referred to in 1912 (**13**, p. 354).

During the resting stage in sporoblast formation, as in the same stage of the male, very distinct centrosomes and asters are generally apparent, being situated on pointed processes projecting from the surface. The next stage is marked by the repeated division of these centrosomes and asters, followed by the division of the nuclei. During this time the whole body of the zygote becomes more or less folded, thus increasing the area of the surface on which the nuclei are situated, and giving room for their increasing number. This process corresponds to the breaking up of the microgametocyte into separate spheres at the stage when its nuclei are rapidly increasing in number.

One very usual method of folding in the dividing zygote is for one pole to become invaginated, as in a gastrula; this was noticed by Schneider (**22**, pl. ix, fig. 24). It is clear that when this cup-like body is cut in one direction an arc of cytoplasm surrounded by nuclei will result such as described by Moroff as characteristic of his A. arcuata (**16**, pp. 118 and 146), just as, when cut through a plane at right angles to the former direction, a ring may result.

The effect of this folding and increase of nuclei is to diminish the relative amount of cytoplasm compared to nuclei, so that when the sporoblasts round off there is never any great quantity of residuum, and in most cases none at all. At this stage, therefore, the oocyst is generally crowded with sporoblasts. In these the centrosome and aster persist for some time, forming a projection on the surface (fig. 4), but I have not been able to trace their division preceding nuclear division to form the sporozoites. Before this happens the whole projection sinks down and the nucleus assumes a resting form (fig. 5). On resuming its activity the nucleus divides into two, but though a spindle is formed, no asters are visible. During this first division the sporocyst makes its appearance (fig. 6). In the vast majority of cases only one of these secondary nuclei divides again (fig. 7), and in this way are formed the nuclei of the three sporozoites (figs. 8 and 9) which are normally present. Only occasionally do both of the secondary nuclei divide again, forming four sporozoites. Each sporozoite has at its posterior end an elongated deeply staining nucleus in which no karyosome can be distinguished (fig. 9).

Sometimes streams of sporocysts are to be observed passing along-blood spaces, although, in the Sepia, no tendency can be seen on their part to open in order that auto-infection may take place. The whole oocyst is generally said to pass into the lumen of the Cephalopod's alimentary canal whence it reaches the exterior. So far no definite evidence of the escape of unbroken oocysts has been obtained, and many of them are very deeply embedded in the thick connective tissue of the wall far from the lining epithelium. Possibly it is by eating the cysts in dead Cephalopods that crabs generally become infected. About the process of schizogony in the crab nothing further need be said, for it has been beautifully described by Leger and Duboscq (**10**).

SYSTEMATIC POSITION.

In having this alternation of hosts corresponding to its alternation of generations, the genus Aggregata differs from all other Coccidia whose life-histories are at present known, and on this account would constitute a distinct family, the Aggregatidæ making a third family of Section A of the Eucoccidia in the classifications drawn up by Minchin (**13**, p. 352). The family could not easily find a place in the classification given by Leger (**10a**, p. 86), except that it would belong to the Eimeridea, which corresponds to Minchin's Section A. The subdivisions of Leger's two sections are based on the number of sporozoites in the oocyst, which Minchin (**13**, p. 353) has suggested is not a natural method of classification. This suggestion is supported by the fact that in the Aggregatidæ, now to be included in Coccidia, there is no constancy in the number of sporozoites, A. eberthi having only three or four in each of its numerous sporocysts, while A. octopiana, according to Moroff (**16**), has sixteen, and other species have from eight to twenty-four.

SUMMARY.

(1) The genus Aggregata is undoubtedly to be included among the Coccidia—the fertilisation being not Gregarine in character as described by Moroff (**15** and **16**), but typically Coccidian. In Aggregata eberthi, here described, from Sepia officinalis, the large female gamete is fertilised by the small, active, biflagellate microgamete, and the zygote so formed gives rise to a large number of sporoblasts.

(2) The polymitotic nuclear divisions giving rise to the microgametes are so similar to those giving rise to the sporoblasts that they afford some evidence in favour of the view that these stages are homologous. It is remarkable also that the microgametes further resemble the sporoblasts in being enclosed in a distinct cyst.

REFERENCES.

1. Comes, S.—"Untersuchungen über den Chromidialapparat der Gregarinen," 'Archiv. Protistenkunde,' x, 1907, pp. 416–439.

2. Cuénot, L.—"Recherches sur l'évolution et la conjugaïson des Gregarines," 'Archiv. de Biol.,' xvii, 1901, pp. 581–652.

3. Eberth, C. J.—"Über die Psorospermienschläuche der Cephalopoden," 'Zeitschr. wiss. Zool.,' Bd. xi, 1862, pp. 397–399.

4. Frenzel, J.—"Übereinige in seetieren lebende Gregarinen," 'Arch. Mikr. Anat.,' Bd. xxiv, 1885, pp. 545–588.

5. Jacquement, M.—"Sur la systématique des Coccidies des Cephalopodes," 'Archiv. Protistenkunde,' ii, 1903.

6. Kunze, W.—"Orcheobius herpobdellæ," 'Archiv. Protistenkunde,' ix, 1907, p. 382.

7. Labbé, Alphonse.—"Recherches Zoologiques, cytologiques et biologiques sur les Coccidies," 'Arch. Zool. expér.' (3), iv, 1896, pp. 515–654.

8. Léger, L., and Duboscq, O.—"Sur l'évolution des Gregarines gymnosporées des Crustacées," 'C. R. Acad. Sc. Paris,' vol. cxlii, 1906, pp. 1225–1226.

9. ——— "L'évolution d'une Aggregata de la Seiche chez le Portunus depurator," 'C. R. Sc. Soc. de Biol.,' vol. lx, 1906, pp. 1001–1003.

10. ——— "L'évolution schizogonique de l'Aggregata (Eucoccidium) eberthi (Labbé)," 'Archiv. Protistenkunde,' xii, 1908, pp. 44–108.

10a. Léger, L.—"Caryospora simplex . . . et la classification des Coccidies," 'Archiv. Protistenkunde,' xxii, 1911, pp. 71–89.

11. Lühe, M.—"Über Geltung und Bedeutung der Gattungsnamen Eimeria und Coccidium," 'Centralbl. f. Bakt. v. Parasit.,' Abt. xxxi, 1902.

12. Minchin, E. A.—'The Sporozoa: a Treatise on Zoology' (Lankester). London: A. & C. Black, 1903.

13. ——— 'An Introduction to the Study of the Protozoa.' London: Edward Arnold, 1912.

14. Monticelli, F. S.—"Fauna elmintologica Golfe Napoli," 'Mittl. Stat. Zool. Neapel.,' viii, 1888, pp. 85–152.

15. Moroff, Theodor.—"Sur l'évolution des prétendues Coccidies des Céphalopodes," 'C. R. Ac. Sc. Paris,' vol. cxlii, 1906, pp. 652–654.

16. ——"Die bei den Cephalopoden vorkommenden Aggregataarten als Grundlage einer kritischen Studie über die Physiologie des Zellkernes," 'Archiv. Protistenkunde,' xi, 1908, pp. 1–224.

17. Prowazek, S.—"Studien über Säugetier trypanosomen, I," 'Arb. Kais. Gesundheitsamte Berlin,' xxii, 1905, pp. 351–395.

18. Robertson, Muriel.—"Notes on certain Blood-inhabiting Protozoa," 'Proc. R. Phys. Soc. Edin.,' xvi, 1906, pp. 232–247.

19. Smith, Geoffrey.—"Note on a Gregarine (Aggregata inachi n. sp.), etc.," 'Mitt. Zool. Stat. Neapel,' xvii, 1905, pp. 406–410.

20. Schaudinn, F.—"Untersuchungen über den Generations-wechsel bei Cocciden," 'Zool. Jahrb. abt. Anat.,' Bd. xiii, 1900, pp. 197–292.

21. Schneider, Aimé.—"Note sur la Psorospermie oviforme du poulpe," 'Arch. Zool. expér.,' vol. iv, Note xiii, 1875, pp. xl–xlv.

22. ——"Nouvelles observations sur la Sporulation du Klossia octopiana," 'Arch. Zool. expér.,' 1883, pp. 77–104.

23. Siedlecki, M.—"Reproduction sexuée . . . de la Coccidie de la Seiche (Klossia octopiana)," 'C. R. Soc. Biol. Paris' (10), v, 1, 1898, pp. 540–543.

24. ——"Étude cytologique . . . de la Coccidie de la Seiche," 'Ann. Inst. Pasteur,' vol. xii, 1898, pp. 799–836.

25. ——"Reproduction sexuée . . . chez Coccidium proprium," 'C. R. Soc. Biol. Paris' (10), v, 1898, pp. 664–666.

EXPLANATION OF PLATE 13,

Illustrating Mrs. Helen L. M. Pixell-Goodrich's paper on "The Sporogony and Systematic Position of the Aggregatidæ."

[Preparations stained iron-hæmatoxylin and drawn with a 2 mm. lens and compensating ocular 12, giving approximately a magnification of 2000, unless otherwise stated.]

Fig. 1.—Part of a section through a macrogamete ready for fertilisation, with cone of attraction (*co.*) and radiating protoplasmic plug (*pp.*)

separating the nucleus (*n.*) from the surface. Stained Ehrlich's hæmatoxylin. × 800.

Fig. 2.—Fertilisation. The microgamete (*m.*) has just entered, and its chromatin in the form of granules (*ch.*) is passing along the spindle threads (*sp.*). *ca.* Large karyosome also giving off chromatin granules. From a section stained iron-hæmatoxylin and orange G.

Fig. 3.—Complete section through a specimen soon after fertilisation showing nuclear spindle (*sp.*). × 1500.

Fig. 4.—Sporoblast with centrosome and aster.

Fig. 5.—Sporoblast during resting stage.

Fig. 6.—Sporocyst with dividing nucleus. Stained Ehrlich's hæmatoxylin.

Fig. 7.—Sporocyst during its second nuclear division. Stained Ehrlich's hæmatoxylin.

Fig. 8.—Sporocyst with three nuclei.

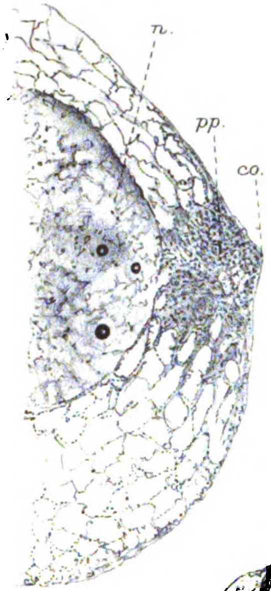
Fig. 9.—Sporocyst containing three sporozoites with terminal nuclei.

Fig. 10.—Portion of a section of a dividing zygote showing one nuclear division nearly complete and secondary spindles already forming with conspicuous centrosomes (*c.*) and asters. The loops of chromatin granules (*ch.*) are already beginning to arrange themselves on the secondary spindles. Preparation stained with iron-hæmatoxylin and Lichtgrün and picric acid. × 3000.

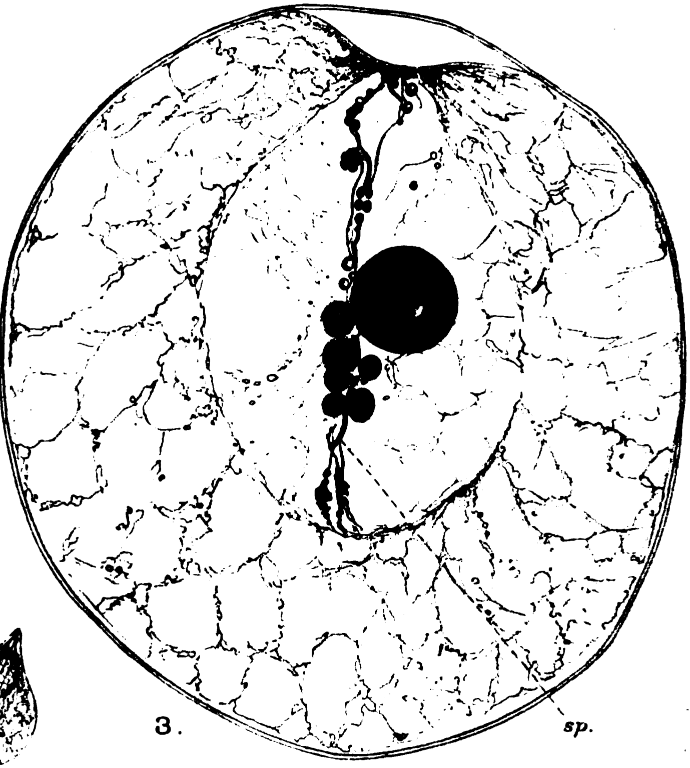
Fig. 11.—Microgamete with more or less corkscrew nucleus (*n.*) and a blepharoplast (*b.*) at base of each flagellum (*f.*). From a film stained with Delafield's hæmatoxylin. × 1500.

Fig. 12.—Portion of a section of one lobe of a folded and dividing zygote to show developing sporoblasts with large faintly staining nuclei (*n.*) each accompanied by an aster and centrosome (*c.*). From same preparation as fig. 13. × 1000.

Fig. 13.—Section through a microgametocyte showing cyst (*cy.*) containing three spheres surrounded by the nuclei (*n.*) of developing microgametes. The centrosomes (*c.*) and asters are situated on processes of the cytoplasm projecting from the surface. Stained Ehrlich's hæmatoxylin. × 1000.

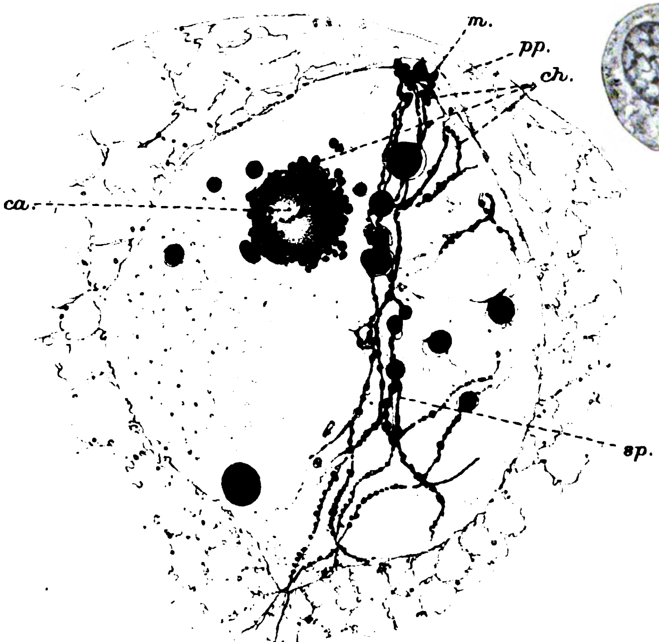


1.

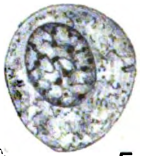


3.

4.



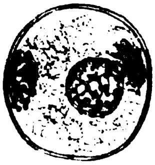
2.



5.

6.

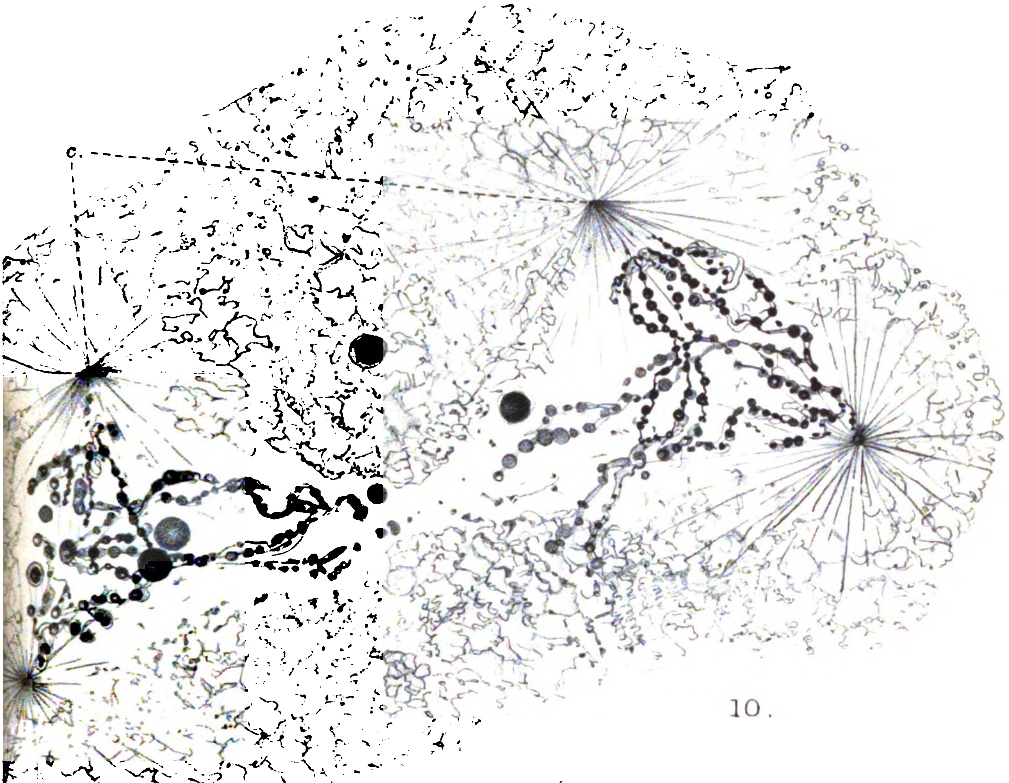
7.



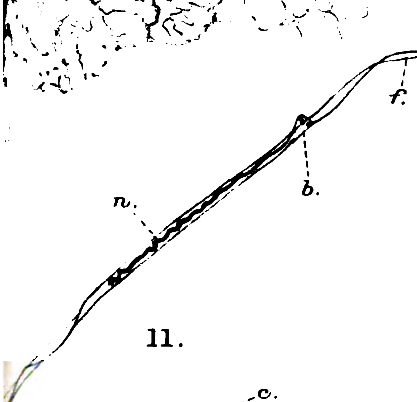
8.

9.

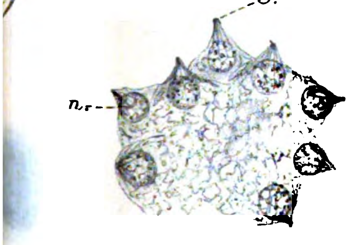
H.L.M. GOODRIC



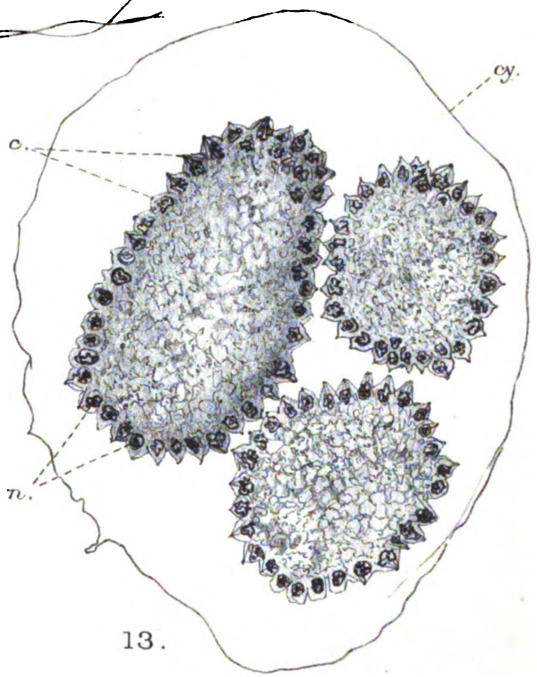
10.



11.



12.



13.

Huth, London.

AGGREGATIDÆ.

10534

late, L.

98

Kelli

⑫

EXTRACTED FROM THE PROCEEDINGS OF THE

INTERNATIONAL CONGRESS OF ZOOLOG

CAMBRIDGE, 1898.

CHITONICIUM SIMPLEX, EIN NEUER ZELLPARASIT.

VON PROF. L. PLATE.

2. CHITONICIUM SIMPLEX, EIN NEUER ZELLPARASIT.

Von Prof. L. Plate.

In der Mantelhöhle des *Ischnochiton imitator* Smith (conservirtes Material aus der Bucht von Talcahuano, Chile) kommt in grossen Mengen ein neuer einzelliger Zellparasit vor, der mir wegen seiner einfachen Fortpflanzungsweise von Interesse zu sein scheint. Er findet sich theils frei in der Mantelhöhle, theils in dem Epithel der Mantelrinne, der Kiemen und des Fusses, welches er auf grosse Strecken hin vollständig zu zerstören vermag. Sowohl im freien, wie im parasitischen Zustande tritt er in zwei verschiedenen Formen auf, die aber durch Übergänge mit einander verbunden sind, und als *Rundstadium* und *Sichelstadium* unterschieden werden mögen. Das erstere stellt eine kleine kugelrunde Zelle dar, die nach aussen von einer glatten Membran begrenzt wird und einen ungefähr 4 μ grossen Kern umschliesst. Der Nucleus ist rund und erscheint intensiv und homogen tingirt oder er lässt einige Nucleolen erkennen. Der Zellleib ist bald im Vergleich mit dem in Grösse ziemlich constanten Kern sehr schmal, bald besitzt er den 2—3 fachen Durchmesser desselben, und zwar finde ich ersteres Verhalten hauptsächlich bei den intra-, letzteres bei den extracellulären Individuen. Befindet sich der Parasit im Innern einer Epithelzelle, so erscheint seine Membran in der Regel viel zarter als im freien Zustande. Nie habe ich irgend eine Andeutung von Pseudopodien oder erheblichen Formveränderungen gesehen, sodass ich dieses Rundstadium für unbeweglich halte. Der Parasit bewirkt den Tod der Epithelzellen, worauf deren Protoplasma zerfällt und sich auflöst, während ihre Kerne sich erheblich länger erhalten und als blass gefärbte Gebilde zwischen den Chitonicien beobachtet werden. Auch die Cuticula der zerstörten Epithelzellen behält stellenweise noch längere Zeit ihre ursprüngliche Lage bei und verhindert, dass die nach innen von ihr isolirt liegenden Zellschmarotzer in die Mantelrinne fallen, bis schliesslich auch sie abfällt. Dann sammeln sich die Parasiten zu Tausenden in der Mantelrinne, wo sie, wie es scheint, von dem Schleim der Schleimkrausen festgehalten werden.

Die Vermehrung des Rundstadiums erfolgt durch einfache amitotische Theilung und zwar sowohl intra- wie extracellulär, wobei in einzelnen Fällen die beiden Tochterkerne nicht genau gleich gross sind.

Das *Sichelstadium* findet sich hauptsächlich intracellulär, doch auch nicht selten frei in der Mantelhöhle. Es geht aus dem Rundstadium dadurch hervor, dass der Kern und der Zellleib sich in die

to L.
Protozoenstudien

⑬

Noctiluca

nd

Herrn Geh. Rath R. Leucka
hochachtungsvollst
L. P.

Separatum aus den Zoologischen Jahrbüchern, Morpholog. Abtheilung, Bd. III, 1888.

Protozoen-Studien.

Habilitationsschrift
zur Erlangung
der venia legendi für die zoologischen Wissenschaften,
durch welche unter Zustimmung
der philosophischen Facultät der Universität Marburg
zu seiner
Sonnabend, den 10. März 1888
Vormittag 11 Uhr
zu haltenden Antrittsvorlesung:

Über
die verschiedenen Formen der Fortpflanzung
im Thierreiche

einladet

Ludwig H. Plate,
Dr. phil.

Jena,
Gustav Fischer
1888.

Die im Nachfolgenden mitgetheilten Beobachtungen sind zu sehr verschiedenen Zeiten angestellt worden und ohne tieferen inneren Zusammenhang aus dem Wunsche entstanden, die Biologie der Protozoen in einigen Richtungen zu fördern. Vornehmlich habe ich der Frage, in wie weit die Conjugation und die Copulation der Protozoen sich mit der grossen organischen Fundamental-Erscheinung der Befruchtung vergleichen lassen, fortdauernd meine Aufmerksamkeit zugewandt, und aus diesem Grunde kann die vorliegende Abhandlung als eine Fortsetzung meiner früheren Untersuchungen über die Ektoparasiten des *Gammarus pulex* angesehen werden. Theoretische Betrachtungen habe ich thunlichst nicht in den beschreibenden Theil aufgenommen, sondern sie zu einem besonderen Schlusscapitel zusammengestellt; mögen sie ihren Zweck erfüllen und einen kleinen Beitrag zur Klärung jener interessanten Verschmelzungsprocesse liefern!

Marburg, 3. Juli 1887.

I. Die Gattung *Acinetoides n. g.*, eine Intermediär-Form zwischen den ciliaten Infusorien und den Acineten.

Auf *Zoothamnium*-Colonien des Neapeler Golfes fand ich im Frühjahr 1886 zwei eigenthümliche, bis jetzt noch nicht beschriebene Suctorien, welche von einigem Interesse sind, weil sie zeitlebens auf dem Entwicklungsstadium stehen bleiben, welches bei den übrigen Acineten durch die frei-beweglichen Knospen repräsentirt wird. Sie gestatten den schon in der Ueberschrift dieses Capitels ausgesprochenen Schluss, dass wir es hier mit einer Thierform zu thun haben, welche einige der charakteristischen Merkmale der ciliaten Infusorien und der Acineten in sich vereinigt. Die zwei Species, welche mir in Neapel zu Gesicht gekommen sind, mögen in Zukunft unter dem Gattungsnamen *Acinetoides* vereinigt werden, der zugleich andeutet, dass die in Rede stehenden Protozoen in ihrem Gesammthabitus den Suctorien immerhin noch näher stehen als den Ciliaten.

Die Figur 1 der Tafel III stellt die grössere der beiden Arten dar; ich erlaube mir, dieselbe zu Ehren des Herrn Prof. R. Greeff, dem wir verschiedene werthvolle Untersuchungen über Protozoen verdanken, *Acinetoides greeffii* zu nennen. Das Thier wird bis zu 0,046 mm gross und erreicht eine Höhe von 0,02 mm. Die Gestalt erinnert sehr an die der Schwärmknospen mancher Acineten, z. B. des *Dendrocometes paradoxus St.,* nur ist die Anordnung der Cilien eine durchaus verschiedene. Die *Acinetoides greeffii* hat eine planconvexe Körperform. Von oben oder von unten (Fig. 2) betrachtet zeigt das Thier einen elliptischen Umriss; die gewölbte Seite unseres Infusors möge als Rücken, die flache als Bauch bezeichnet werden. Die letztere ist selten ganz eben, sondern in der Regel muldenförmig vertieft, sowie Fig. 1 dies veranschaulicht. Nur das eine Ende derselben, welches wir als das vordere ansehen wollen, pflegt hiervon eine Ausnahme zu machen; dasselbe springt in der Form eines flachen Kegels über den ventralen Körperrand vor und trägt in seiner Mitte das Organ für die Nahrungsaufnahme, einen an seiner Spitze geknöpften Saugfaden, der sich bis tief in's Innere des Zellkörpers verfolgen lässt und sich nur durch seine auffallende Kürze und Starrheit von den gleichen Organen der meisten andern Acineten unterscheidet; wenigstens habe ich nie Exemplare gefunden, die ihren Tentakel völlig in das Zellplasma retrahirt hatten, sondern auch bei stark beunruhigten Thieren war dieser kurze Saugfaden stets sichtbar. Ueber die feinere Structur dieses Gebildes habe ich aus Mangel an starken Objectiven nicht viel ermitteln können; es schien mir ein von einem Längscanal durchzogener Plasmastab zu sein. — Für die Gattung *Acinetoides* ist die dauernde Bewimperung der Bauchseite in hohem Grade charakteristisch. Sie erstreckt sich nicht über die ganze Unterseite, sondern nimmt, wie man bei der Betrachtung der Ventralfläche (Fig. 2) sieht, nur ein elliptisches inneres Feld ein, lässt dagegen den peripherischen Saum cilienfrei. Die Wimpern sind in Längsreihen angeordnet und scheinen in besonderen Furchen zu stehen; wenigstens bemerkt man auf der Bauchseite eine zarte Längsstreifung, die sich über ein genau so grosses Feld ausbreitet wie die Cilien. Jeder Streifen besteht aus hintereinander liegenden Körnchen und macht daher ungefähr denselben Eindruck wie bei *Stentor* die Körnchenreihen, zwischen denen die myophanen Fibrillen verlaufen. Irgendwelche Fäden, die den letzteren entsprächen, habe ich bei den *Acinetoides*-Arten nicht entdecken können, obwohl es ganz sicher ist, dass der Bauchfläche von *Acinetoides greeffii* ein hoher Grad von Contractilität zukommt; ich vermuthe daher, dass eine mit sehr starken Linsen vorgenommene Untersuchung auch bei unserer Thierform muskelartige Fibrillen wird nachzuweisen vermögen. Mit Hilfe dieser Contractilität ist dieselbe im Stande, ihre Gestalt etwas zu modificiren, namentlich die Rückenfläche bald stark halbkuglig, bald etwas flacher zu wölben. Ich komme weiter unten bei der Schilderung der Lebensweise unserer Infusorien noch darauf zurück, welchen Gebrauch die *Acinetoides*-Arten von dieser Fähigkeit machen. — Die *Acinetoides greeffii* wird nach aussen überall von einer dünnen Cuticula begrenzt. Das Innere des Zellkörpers entbehrt aller besonderen Eigenthümlichkeiten. Wir finden daselbst einen länglichen, häufig wurstförmig gekrümmten Kern (Fig. 1 *N*), der sich fast durch die ganze Zelle ausdehnt, eine feinkörnige Structur besitzt und von einer besonderen Membran umschlossen wird; ferner zahlreiche, fettartig glänzende Körnchen und eine dicht über der Bauchfläche gelegene contractile Vacuole (Fig. 1, 2, *c. v*).

Die zweite hierher gehörige Art, welche nach ihrem Aufenthaltsort den Speciesnamen *Ac. zoothamni* führen mag, gleicht der soeben beschriebenen fast in allen Punkten. Nur ist sie bedeutend kleiner, nämlich ungefähr halb so gross wie *Acinetoides greeffii*, und besitzt einen anders geformten Kern, von kugelrunder Gestalt und relativ sehr geringer Grösse (Fig. 4, *N*).

Auch in der Lebensweise giebt sich die Artverschiedenheit der zwei soeben geschilderten Infusorien deutlich zu erkennen. Beide haben das miteinander gemein, dass sie sich auf Colonien der Vorticellinengattung *Zoothamnium* aufhalten und sich durch Aussaugen der Individuen derselben ernähren. Sie sind also Schmarotzer und werden jenen zierlichen Stöcken in hohem Maasse gefährlich. Ich habe oft Bäumchen derselben angetroffen, die an einzelnen Zweigen alle Individuen durch die sie umschwärmenden Acinetoides verloren hatten. Merkwürdiger Weise sucht sich nun jede *Acinetoides*-Art eine ganz bestimmte Körperregion einer Zoothamnie zur Festheftung aus. Die Individuen von *Acinetoides greeffii* bevorzugen stets die Basis ihrer Beutethiere, dort, wo der Muskel des contractilen Stieles pinselförmig in die Glocke ausstrahlt, und fixiren sich hier dadurch, dass sie in der Mitte ihres Körpers quer zusammenknicken und sich dabei eng an ihr Opfer anpressen (Fig. 3). Offenbar sind sie hierzu nur durch die hohe Contractilität der Ventralfläche befähigt, indem die Festheftung durch Bildung eines luftverdünnten Raumes innerhalb der muldenförmig vertieften Bauchseite erfolgt. Während das Plasma der Vorticelline in die *Acinetoides* überströmt, verhalten sich die Wimpern der letzteren in der Regel ganz ruhig; nur zuweilen gerathen sie für wenige Augenblicke sämmtlich oder theilweise wieder in Bewegung, ein Beweis, dass bei der Anheftung nur der periphere Rand der Bauchseite unserer Suctorie der Beute angeschmiegt wird. In dieser Stellung verharrt die *Acinetoides* oft geraume Zeit, eine Stunde und länger, manchmal hingegen nur wenige Minuten. Kurz vor der Loslösung beginnen die Cilien heftiger zu schlagen, das Thier bewegt sich etwas hin und her, ja rotirt zuweilen um die noch immer in der Beute steckende Saugröhre und reisst sich endlich ganz von seinem Opfer los. Die Bewegungen während des freien Umherschwärmens sind sehr unstät und erinnern ganz an das ruckweise Hin- und Hertaumeln der Acinetensprösslinge. Vielfach habe ich beobachtet, dass die Thierchen schon ca. eine Minute nach der Loslösung sich auf's neue festgeheftet hatten. Die *Acinetoides greeffii* ist so gross, dass nur zwei derselben gleichzeitig an einer Zoothamnie Platz finden, da sie eben stets die

Basis der Glocke zur Fixation aufsucht. Anders ist es dagegen bei der kleineren Art. Diese meidet die Nähe des Stielgrundes und setzt sich mit Vorliebe am Peristom, auf dem Peristomdeckel oder den Körperseiten fest, und in Folge der geringeren Grösse sieht man oft 3—5 Individuen gleichzeitig mit dem Aussaugen derselben Zoothamnie beschäftigt. Der Tod der letzteren tritt schon sehr bald nach der Festheftung einer *Acinetoides* ein, sodass diese offenbar ihre Beute mit irgend einer ätzenden Flüssigkeit in Berührung bringt. Durch den Substanzverlust, den die Zoothamnie sodann erleidet, collabirt der vordere Abschnitt der Glocke, und die Cuticula derselben legt sich in zahlreiche Runzeln und Falten (Fig. 3. 4). Merkwürdige Weise saugen unsere Thierchen ihre Opfer — auch wenn mehrere Individuen von einem und demselben zehren — nie ganz aus, sondern beschränken sich auf einen Theil des Plasmas, um sich sodann auf ein anderes Infusor zu stürzen. Es kann dies wohl nur darin seinen Grund haben, dass die Körpersubstanz der Zoothamnie durch längeres Einwirken der von der Acinete ausgeschiedenen abtödtenden Flüssigkeit verändert wird und dann unseren Thierchen nicht mehr mundet.

Ueber die Fortpflanzung der Gattung *Acinetoides* konnte ich mich nur an der kleineren Art unterrichten (Fig. 4). Es ist eine genaue Erkenntnis derselben natürlich von der grössten Wichtigkeit, weil ohne dieselbe die Möglichkeit bestehen bleibt, dass die beschriebenen Protozoen nur Schwärmknospen anderer Suctorien darstellen; unterscheiden sie sich von diesen doch nur durch das Vorhandensein der einen Saugröhre! Dass eine solche Vermuthung nicht richtig wäre, war mir freilich von Anfang an klar, da ich die *Acinetoides* stets in grösserer Zahl zusammen beobachtete, und sich an den von ihnen befallenen *Zoothamnium*-Colonien im Uebrigen nur einige wenige Podophryen vorfanden, die kleiner waren als die hier geschilderten Suctorien, daher unmöglich mit denselben zusammenhängen konnten. Ausserdem kamen mir auch die schwärmenden Knospen dieser Podophryen zu Gesicht; sie hatten eine ganz andere Körperform als die *Acinetoides*-Arten und besassen auch keinen Saugtentakel. Der Schluss, dass diese selbständige Organismen und nicht blosse Entwicklungsformen seien, war daher unabweisbar und wurde auch später durch die Beobachtung der Fortpflanzung der *Acinetoides zoothamni* durch einfache Quertheilung (Fig. 4) bewahrheitet. Die in der Durchschnürung begriffenen Individuen schwammen theils umher, theils sassen sie auf ihren Nährthieren, ohne dass es mir jedoch gelungen wäre, in letzterem Falle einen doppelten Saugtentakel zu bemerken. — Die Fortpflanzung durch Quertheilung liefert einen neuen Beweis für die vermittelnde Stellung, welche die Gattung *Acinetoides* zwischen den Ciliaten und den Suctorien einnimmt. Ein derartiger Fortpflanzungsmodus ist freilich schon bei verschiedenen anderen Acineten, so bei *Podophrya fixa, Acineta mystacina, Urnula epistylidis* und einigen anderen beobachtet worden, bleibt aber immerhin eine seltene Vermehrungsweise der Suctorien, welche hinter der Fortpflanzung durch äussere oder innere Knospen ganz zurücktritt, während umgekehrt bei den Ciliaten die neuen Individuen in der Regel durch Quer- oder Längstheilung entstehen und nur bei einzelnen festsitzenden Gattungen als Knospen angelegt werden. Dieser Gegensatz, der zwischen Wimperinfusorien und Acineten hinsichtlich der Fortpflanzung besteht, ist kein principieller, sondern nur durch die verschiedene Lebensweise bedingt. Ein sessiler Organismus befindet sich in Betreff der Ernährungsmöglichkeit im Vergleich mit einem ebenso gebauten, aber freibeweglichen stets im Nachtheil und bedarf daher zur Erhaltung seiner Art einer grösseren Nachkommenschaft, ein Ziel, das natürlich durch Bildung zahlreicher kleiner Knospen eher erreicht wird als durch einfache Theilung, die aus einem Mutterthier nur zwei Nachkömmlinge liefert.

Welche systematische Stellung die Gattung *Acinetoides* einzunehmen hat, kann nach dem Gesagten nicht zweifelhaft sein; sie ist zu den Suctorien zu rechnen und als ein Bindeglied zwischen diesen und den ciliaten Infusorien anzusehen. Die Existenz einer derartigen Intermediär-Form liefert, wie mir scheint, ein neues Argument zur Stütze der schon von verschiedenen Forschern vertretenen Ansicht, dass die Acineten modificirte Ciliaten sind, welche im Zusammenhang mit der Erwerbung einer sesshaften oder schmarotzenden Lebensweise eigenthümliche Saug- und Fangfäden, die als Organe sui generis anzusehen sind, erlangt haben. Diese Anschauung fusst vornehmlich auf der Thatsache, dass die Knospen der Acineten durch ihren holo-, hypo-, oder peritrichen Wimperbesatz an die eigentlichen Infusorien erinnern, dass die Acineten also in ihrer Jugend ein ciliatenartiges Stadium durchlaufen. Man hat gegen diese Auffassung der Schwärmknospen — wie mir scheint mit Unrecht — vorgebracht, dass das sogenannte „biogenetische Grundgesetz“ auf einzellige Organismen überhaupt nicht anwendbar sei, und daher die freie Beweglichkeit der Acinetensprösslinge als eine besondere Anpassungserscheinung betrachtet werden müsse. Liegt im Organismus wirklich die Tendenz, in der

Ontogenie gewisse morphologische Verhältnisse, die in ihrer Aufeinanderfolge der phylogenetischen Entwicklung entsprechen, zu recapituliren, so bleibt es sich ganz gleich, ob sich diese Verhältnisse an einer Zelle oder an einem Zellencomplexe abspielen. Bei der Knospenbildung, wo Mutter- und Tochterthier schon äusserlich so verschieden gebaut sind, wird höchst wahrscheinlich auch die Micellarstructur des Plasma's in der Knospe von derjenigen der Mutter abweichen, und es ist ganz gut denkbar, dass die erstere mit der den Vorfahren des betreffenden Infusors eigenthümlichen Plasmastructur annähernd übereinstimmt, und daher auch auf die Entwicklungsgeschichte der Knospe das biogenetische Gesetz sich anwenden lässt. Das letztere ist nur dann unmöglich, wenn ein Protozoon in zwei Theilstücke zerfällt, die sich äusserlich und in ihren weiteren Wachsthumserscheinungen genau gleich verhalten; dies ist aber bei der Vermehrung durch Knospen nicht der Fall. Suctorien von der Beschaffenheit der Gattung *Acinetoides* lassen sich ungezwungen nur auf ciliate Infusorien zurückführen — sei es nun direct oder durch Ableitung beider Familien von einer gemeinsamen Stammform — und daher scheint mir auch die Ansicht, welche MAUPAS[1]) neuerdings vertreten hat, dass nämlich die Acineten den Rhizopoden, speciell den Heliozoen[2]) näher stehen als den Ciliaten, nicht richtig zu sein. Denn sind wirklich die Saugorgane der Suctorien aus Pseudopodien der Rhizopoden hervorgegangen, so müssten dieselben stets in grösserer Zahl vorhanden sein, während doch bei *Acinetoides* sich nur ein solcher Tentakel vorfindet. Man müsste also zur Aufrechterhaltung der MAUPAS'schen Anschaung eine Reduction in der Zahl der Tentakeln für das eben genannte Genus annehmen, eine Vermuthung, die sich nur schwer mit den übrigen primitiven Charakteren derselben vereinigen lässt. MAUPAS[3]) führt zur Stütze seiner Hypothese eine Behauptung ENGELMANN's an, nach der die Cilien bei niederen Pflanzen und Thieren so verbreitet seien, dass man bei phylogenetischen Untersuchungen keinen Werth auf ihr Vorhandensein oder Fehlen legen könne. Ich glaube, die genannten Forscher gehen in ihrer Schlussfolgerung etwas zu weit; richtig ist es gewiss, dass Organe, welche, wie z. B. die Cilien oder die Augenpigmentflecke, in den verschiedensten Klassen wiederkehren, bei phy-

---

1) E. MAUPAS, Contribution à l'étude des Acinétiens in Arch. de Zool. Expérimentale, T. IX, 1881, p. 299—368.

2) MAUPAS, l. c. p. 367.

3) MAUPAS, l. c. p. 363.

logenetischen Fragen nur mit Vorsicht zu verwerthen sind; aber völlig bedeutungslos werden sie deshalb noch nicht, denn auch sie werden in ihrer Anordnung und Stellung durch die Vererbung bedingt. Nur so wird es erklärlich, dass nah verwandte Acineten vielfach Schwärmknospen mit gleicher oder ähnlich gruppirter Flimmerung haben, wofür die im folgenden Capitel beschriebene Suctorie, deren nächste Verwandte unzweifelhaft der *Dendrocometes paradoxus* ist, ein gutes Beispiel liefert. Man kann daher mit Recht aus dem Flimmerkleide der Acinetenknospen schliessen, dass die Suctorien genealogisch mit den Ciliaten zusammenhängen, eine Folgerung, die sich um so ungezwungener ergiebt, als wir viele Wimper-Infusorien kennen, die ihre Mundöffnung durch Anpassung an eigenartige Lebensverhältnisse verloren haben. — Bei *Sphaerophrya magna* hat MAUPAS[1]) Tentakeln nachgewiesen, welche sehr an die Pseudopodien der Rhizopoden erinnern. Es sind contractile Stäbe, welche von einer plasmatischen Axe und einer Rindenschicht gebildet werden, also nicht hohl sind und sich auch nicht in den eigentlichen Körper der Acinete fortsetzen. Sie endigen mit einem Knopfe, der die mit ihm in Berührung kommenden Infusorien sehr schnell abtödtet und festhält. Darauf nimmt der Tentakel sehr an Dicke zu, was MAUPAS wohl mit Recht auf Rechnung eines nicht sichtbaren Plasmastromes setzt, der von der Suctorie aus nach der Beute fliesst und auch wohl in diese eindringt. Schliesslich bemerkt man einen Strom in umgekehrter Richtung, der das Plasma des gefangenen Thierchens dem Körper der *Sphaerophrya* zuführt. Die Nahrungsaufnahme geschieht hier also in ganz ähnlicher Weise wie mittels echter Pseudopodien, nämlich ohne pumpende Bewegung. Derartige Organe sind aber keineswegs charakteristisch für die ganze Classe der Acineten, sonder sind bis jetzt nur von jener einen Form bekannt. Speciell den Suctorien eigenthümlich sind die „Saugröhren“, Plasmastäbe, welche von einem Kanal durchzogen werden, in der Regel tief im Zellkörper entspringen und durch eine pumpende Bewegung die Nahrung ihrer Beute entziehen. Bei den meisten Gattungen treffen wir nur derartige Gebilde an, die sich weder auf die Wimpern der Ciliaten noch auf die Pseudopodien der Heliozoen zurückführen lassen, sondern als Organe sui generis anzusehen sind; aus ihnen sind dann auf einer höheren Differenzirungsstufe erstens jene pseudopodienartigen Tentakeln und zweitens die Fangfäden hervorgegangen, die nur zum Ergreifen der Beute dienen und

---

1) MAUPAS l. c. p. 300 ff.

über deren Bau die Untersuchungen noch nicht abgeschlossen sind. R. Hertwig schreibt ihnen bei *Podophrya gemmipara* eine solide Structur zu, während **Maupas** einen Canal im Innern gefunden haben will. — Der letztere Forscher hat schon hervorgehoben [1]), dass Nebenkerne bis jetzt nur von gewissen Ciliaten und einigen Suctorien bekannt sind, aber bei Rhizopoden noch nicht gefunden wurden; dieser Umstand spricht ebenfalls zu Gunsten der alten Theorie, welche ich hier weiter zu stützen versucht habe. — Schliesslich sei noch erwähnt, dass sich auch im Verlaufe der Conjugation Homologien zwischen Acineten und Ciliaten nachweisen lassen. Bei *Dendrocometes paradoxus* z. B. wächst der Kern, wie ich in einer früheren Arbeit [2]) gezeigt habe, bei Beginn jenes Vorganges zu einem langen Faden aus und zerfällt sodann in zahlreiche Stücke, gerade so, wie dies von manchen Wimperinfusorien (z. B. *Paramaecium aurelia* und *putrinum*) bekannt ist. Die Suctorie, welche im folgenden Abschnitte dieser Abhandlung eingehend geschildert werden soll, weist ferner ein interessantes Conjugationsstadium auf, das sich gegenwärtig nur mit einem ähnlichen von *Paramaecium aurelia* vergleichen lässt. Im Uebrigen sind wir über die Conjugation der Acineten noch zu wenig unterrichtet, um genealogische Beziehungen aus derselben ableiten zu können.

II. *Asellicola digitata*, die „gefingerte Acinete“ Stein's.

Die im Nachstehenden beschriebene Acinete ist eine nahe Verwandte des *Dendrocometes paradoxus St.* und lebt auf den Kiemenblättern des *Asellus aquaticus*; sie ist generisch von allen bis jetzt bekannten Suctorien verschieden, und ich schlage für dieselbe nach ihrem Vorkommen den Gattungsnamen *Asellicola* vor. Den Speciesnamen *digitata* habe ich gewählt, weil der verdienstvolle Forscher Fr. v. Stein dieselbe in seiner ersten grösseren Publication über Infusorien [3]) schon recht deutlich beschrieben und abgebildet hat. Stein hielt, als er die *Asellicola* entdeckte, die Acineten irrthümlicher Weise

---

1) Maupas, l. c. pag. 364.

2) L. Plate, Untersuchungen einiger an den Kiemenblättern des Gammarus pulex lebenden Ektoparasiten. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XLIII, p. 175—241.

3) Fr. Stein, Die Infusionsthiere auf ihre Entwicklungsgeschichte untersucht. Leipzig, 1854 p. 228.

für Entwicklungszustände der Wimperinfusorien und gab unserem Thiere, da er die zugehörige ciliate Form noch nicht gefunden hatte, vorläufig nur die Bezeichnung „die gefingerte Acinete“; er scheint dieselbe auch nicht gründlich studirt zu haben, da er in seiner Beschreibung nur die allgemeine Körpergestalt erwähnt, ohne auf den Bau der Arme, die Beschaffenheit des Kernes und des Zellinneren, die Fortpflanzung und die Conjugation einzugehen [1]).

Die *Asellicola digitata* (Taf. III, Fig. 5) ist eine stiellose, halbkugelförmige, mit Kern (*N*) und contractiler Vacuole (*c. v*) versehene Acinete, welche mit der flachen, sanft abgerundeten Unterseite der Kiemenblattfläche sich eng anschmiegt. Sie erreicht im Maximum ungefähr eine Länge von 0,11 mm und eine Höhe von 0,06 mm. Der ganze Körper wird von einer dünnen, aber dennoch doppelt contourirt erscheinenden Cuticula bedeckt, die sich auch auf die zahlreichen Arme (*t*) fortsetzt, welche von der Rückenfläche ausstrahlen und in ihrer Form und Gruppirung für unsere Art sehr charakteristisch sind. Die Cuticula ist am eigentlichen Körper überall gleich dick und farblos, nur in der Mitte der Unterseite bildet sie einen elliptischen, verdickten Ring (*r*), der sich über die Basalfläche erhebt und mittels dessen das Thier auf seiner Unterlage festgeheftet ist. Die Körpergestalt ist natürlich, wie bei allen Suctorien, geringen Abweichungen unterworfen, von denen der Leser einige bei Stein [2]) abgebildet findet. Auch durch Reagentien kann man die Körperumrisse verändern. Während bei den lebenden Individuen die Basalfläche eigentlich immer dem Kiemenblatte dicht anliegt, hebt sich dieselbe, wenn die Thiere im Wasser abgestorben sind, in halbkugeliger Wölbung von jenem ab, und man erkennt dann sehr deutlich, dass die *Asellicola* nur mit dem erwähnten Ringe aufsitzt. Dasselbe lässt sich durch Essigsäure und andere Mittel, welche eine Quellung des Plasmas bewirken, erreichen. — Während der *Dendrocometes paradoxus* nur selten sich auf dem Rande der Kiemenblätter des *Gammarus pulex* festsetzt, sondern ganz überwiegend auf der eigentlichen Blattfläche angetroffen wird, verhält sich die *Asellicola digitata* in dieser Hinsicht gerade umgekehrt. Die Individuen der letzteren lassen sich neben einander auf dem Kiemenblattsaume nieder und zwar vorzugsweise auf den nach aussen und nach hinten gelegenen Theilen desselben. Die nach innen gekehrte Seite der Blattkante, sowie die Blattfläche werden nur ausnahmsweise bewohnt, meist nur dann, wenn der äussere Rand schon dicht besetzt ist. Auch habe ich öfters an Kiemen, welche sehr zahlreiche, eng bei einander sitzende Asellicolen aufwiesen, die Beobachtung gemacht, dass die wenigen Exemplare des Innensaumes sämmtlich kleiner, also jünger waren als jene, sodass man annehmen darf, dass die Schwärmknospen unseres Thierchens trotz des Mangels äusserer Sinnesorgane sehr gut die verschiedenen Blattseiten zu unterscheiden vermögen und nur bei Ueberfüllung der äusseren Kanten mit der inneren fürlieb nehmen. Diese offenbar zweckmässige Handlungsweise eines so niedrig stehenden Organismus lässt sich auch nicht gut rein mechanisch erklären. Freilich läuft in Folge der Stellung und Bewegung der Kiemenblätter der Wasserstrom bei beiden Crustaceen von aussen nach innen über jene Respirationsorgane hinweg, und die ausgesprochene Vorliebe der *Asellicola* für den Aussenrand ist wegen der reicheren Nahrungszufuhr, die ihr hier geboten wird, leicht verständlich. Aber andererseits befinden sich doch die Schwärmknospen des *Dendrocometes* in ganz derselben Lage, und trotzdem fixiren sich dieselben an irgend einer beliebigen Stelle der Blattfläche, meiden aber ängstlich den Rand, als ob sie im voraus wüssten, dass die Basalmembran¹) des ausgebildeten Thieres nur auf einer Fläche eine passende Unterlage finden könne. Auch *Spirochona gemmispara* St. bevorzugt in ganz unverkennbarer Weise die nach aussen gekehrten Blattränder, wovon ich mich nachträglich durch Betrachtung meiner Dauerpräparate überzeugt habe, und stimmt auch darin mit *Asellicola* überein, dass nur selten Exemplare auf die peripherische Blattfläche übertreten. Wir dürfen daher den Schwärmknospen der drei hier erwähnten Kiemenbewohner die Fähigkeit zuschreiben, die ihrer Art im ausgewachsenen Zustande am meisten zusagenden Blatttheile von den weniger günstigen unterscheiden zu können. In Folge dieses Instinktes treffen wir die jungen Asellicolen häufig so eng aneinander sitzend, dass sie später, wenn sie zur vollen Grösse herangewachsen sind, nur ungenügend Platz haben und sich durch gegenseitigen Druck eine

---

[1]) Claparède und Lachmann (Etudes sur les Infusoires etc. I, p. 386), sowie auch S. Kent (Manual of the Infusoria, II, p. 812) stellen, wie ich nachträglich finde, die *Asellicola* in das Genus *Trickophrya*, ohne indessen diese Ansicht durch eigene Beobachtungen zu stützen; die *Tr. epistilydis* unterscheidet sich aber, vornehmlich im Bau der Tentakeln, so erheblich von der „gefingerten Acinete“, dass für diese unbedingt eine neue Gattung geschaffen werden muss.

[2]) ibid. Taf. V, Fig. 19—22.

---

1) Cf. über diesen Punkt meine frühere Arbeit p. 179.

viereckige Gestalt geben, oder auch wohl ein schwächeres Individuum vom Rande auf die Blattfläche hinaufdrängen.

Das Plasma des Zellkörpers zerfällt nicht, wie bei manchen Acineten, in eine Mark- und Rindenschicht, sondern weist überall dieselbe Beschaffenheit auf. — Der Kern hat eine längliche, wurstförmige Gestalt und ist häufig mit halbkugeligen Vorsprüngen und kleinen unregelmässigen Seitenästen versehen. Nicht selten besitzt er die Contouren eines irregulären Kreuzes (Fig. 8). Nach aussen wird er von einer zarten Kernmembran begrenzt und im Innern tritt uns eine feine Körnelung als Ausdruck eines sehr engen Maschenwerkes entgegen. Nebenkerne sind nicht vorhanden, wohl aber besitzen die Asellicolen häufig dieselben runden, mit Farbstoffen sich stark tingirenden Kügelchen (Fig. 5, *ti*), welche ich früher als „Tinctinkörper“ von *Dendrocometes* beschrieben habe. Es sind offenbar irgendwelche Assimilationsproducte, die mit dem Kern nichts zu thun haben, denn in ihrer Zahl und Grösse sind sie bedeutenden Schwankungen unterworfen. Manche sind nur punktgross, während andere einen Durchmesser von 0,005 mm erreichen. In gut genährten und von zahlreichen Fetttröpfchen durchsetzten Thieren findet man manchmal an 30 durch das Zellinnere zerstreut; in anderen Exemplaren fehlen sie wieder ganz. Dass sie nicht mit den Nebenkernen der Ciliaten zu identificiren sind, folgt mit Sicherheit aus dem Umstande, dass sie bei der Conjugation keine Veränderungen erleiden. — In der *Asellicola digitata* finden sich ausserdem, wie bei *Dendrocometes*, nicht selten grüne oder gelbgrüne Körner von 0,003—0,005 mm Grösse, die auf den ersten Anblick sehr an Chlorophyll erinnern. Ich habe auch hier wieder die Ueberzeugung gewonnen, dass die Kügelchen von der Acinete selbst gebildet werden, daher nicht erst mit der Nahrung in das Thier gelangen. Denn einmal mangelt ihnen jede zellige Structur, sodass eine Verwechslung mit parasitischen Algen ausgeschlossen ist, und zweitens erhalten sie sich oft stundenlang im Plasma unverändert; sieht man sie doch auch in Exemplaren, die ihre sämmtlichen Arme eingezogen haben, ein Process, der geraume Zeit in Anspruch nimmt. Da nun die Protozoen ganz allgemein echte Chlorophyllkörner, die mit der Nahrung aufgenommen sind, schnell verdauen und dabei entfärben, so bleibt nur die eine Deutung übrig, der zu Folge diese grünen Gebilde Assimilationsproducte irgend welcher Art vorstellen. Der grüne Farbstoff lässt sich mit Alcohol ausziehen, und es bleiben dann Körner zurück, die sich von den übrigen glänzenden Granula der Zelle nicht unterscheiden lassen.

Die contractile Vacuole der *Asellicola digitata* (Fig. 5, *c. v*) liegt nahe dem unteren Rande des einen der seitlichen Körperpole. Sie mündet, wie bei *Dendrocometes paradoxus*, durch einen kleinen Canal direct nach aussen und zieht sich auch so zusammen, dass die Flüssigkeit, welche sich in ihr angesammelt hat, durch jenes Röhrchen herausgepresst werden muss. Das Zeitmaass, mit dem die Pulsationen auf einander folgen, ist sehr verschieden und hängt scheinbar von dem Wohlbefinden des Thieres ab. Bei lebenskräftigen Individuen können mehrere in einer Minute stattfinden, während bei solchen, die schon längere Zeit im Uhrschälchen gehalten wurden, sich dieselben viel langsamer wiederholen.

Das Cytoplasma der *Asellicola* weist noch eine Eigenthümlichkeit auf, die den Beobachter leicht irre führen kann. Ueber dem Cuticularring, mit dem unsere Acinete an der Unterlage festsitzt, bemerkt man eine fächerförmig nach allen Seiten hin ausstrahlende streifige Structur (Fig. 5), die den Eindruck macht, als ob hier eine Anzahl von feinen Canälen zusammenstiessen. Die einzelnen Radien sind schräg nach oben gerichtet, und zwar bilden die äusseren mit der Basalfläche ungefähr einen Winkel von 45°. Da sie sich bis in die Höhe des Kernes, also ziemlich weit in das Zellinnere hinein deutlich verfolgen lassen, so vermuthete ich Anfangs, dass die Canäle, welche die Arme ihrer ganzen Länge nach durchziehen, sich bis zum Centrum der Unterseite fortsetzten. Dies ist jedoch nicht der Fall: die streifige Structur des Plasmas hängt mit den Saugorganen in keiner Weise zusammen, sondern hat wohl nur die Aufgabe, dem Zellkörper an seinem Fixationspunct durch Ausbildung starrer Stäbe eine erhöhte Festigkeit zu geben.

Die von der Rückenfläche auslaufenden Arme (Fig. 5, *t*) fesseln das Interesse des Beobachters mehr als irgend ein anderer Körpertheil unserer Acinete. Es sind im Vergleich mit den Tentakeln der übrigen Suctorien ungewöhnlich breite, spitz endigende Körperfortsätze von durchschnittlich 0,036 mm Länge, welche bei verschiedenen Individuen in sehr variabler Anzahl angetroffen werden und an jeder Stelle der Dorsalseite entstehen können. So weit sie vom eigentlichen Rücken ausstrahlen, sind sie in der Regel völlig gerade, während die in der Nähe des Basalrandes gruppirten sanft nach oben gekrümmt zu sein pflegen. Ihre feinere Structur ist aus der Figur 6 ersichtlich. Sie werden nach aussen von einer dünnen Membran, einer Fortsetzung der Cuticula des Körpers bekleidet, die nach der Spitze zu sehr zart wird. Das Plasma der Arme erscheint ganz hell, da alle gröberen

Granula in ihm fehlen. Es wird in der Mitte der Länge nach von einem mit einer wasserklaren Flüssigkeit erfüllten Canal durchzogen, der am vorderen Ende ausmündet. Eine besondere Wandung vermochte ich an demselben nicht zu erkennen und halte ihn daher für einen einfachen Längsspalt im Plasma. Er ist am lebenden Thiere wegen seiner grossen Feinheit oft gar nicht zu bemerken, lässt sich aber durch Osmiumsäure fast immer mit aller Sicherheit nachweisen. Dieser Canal setzt sich nicht, wie dies bei den Saugröhren der meisten Acineten der Fall ist, in das Innere der Zelle fort, wenigstens ist dies nie der Fall bei völlig ausgestreckten Armen. Häufig werden dieselben aber durch einen langsamen, mehrere Stunden währenden Process in den Körper eingezogen, und bei solchen, schon auf die halbe Grösse reducirten Tentakeln sah ich den Canal auch wohl eine kurze Strecke nach innen vordringen. Sind aber die Arme erst völlig dem Zellplasma wieder einverleibt worden, so ist auch jede Spur von jenen Canälen verschwunden. — Die nahe Verwandtschaft der *Asellicola* mit dem *Dendrocometes*, auf die im Vorhergehenden schon mehrfach hingewiesen wurde, offenbart sich auch bei einer genauen Betrachtung des freien Endes der Saugröhren. Fixirt man ein solches für einige Minuten bei einem lebensfrischen Exemplare, so bemerkt man, wie die äusserste Spitze sich als ein besonderes Tentakelchen von dem Arme abhebt (Fig. 6) und beständig — mehrere Male in einer Minute — ein- und ausgestülpt wird. Diese pumpende Bewegung findet also auch statt, wenn der Arm durchaus nicht in der Lage ist, Nahrung in sich aufzunehmen. Wesshalb sie erfolgt, lässt sich schwer sagen. Man kann vermuthen, dass die Thiere entweder blos Wasser einsaugen, welches dann später wieder durch die contractile Vacuole entfernt wird, oder dass hier eine Art unwillkürliche Bewegung vorliegt, die nur dann für das Individuum von Nutzen ist, wenn zufällig eine Amöbe, ein Infusor oder sonst irgendwelche Nahrung mit dem Arme in Berührung gekommen und an diesem kleben geblieben ist. Dieser letzteren Auffassung lässt sich aber mit Recht entgegenhalten, dass die Tentakelchen oft nur zum Theile in Thätigkeit sind, während die anderen an demselben Thiere sich ganz ruhig verhalten. — Im völlig ausgestreckten Zustande ist die hintere Grenze des Tentakelchens kaum wahrzunehmen. Sowie aber die Einstülpung, die an der Basis des Tentakelchens anfängt, begonnen hat, bildet sich ein kleiner Wulst, der die beiden Abschnitte deutlich von einander trennt und um so markirter wird, je mehr das Endglied verschwindet. Ist das letztere schliesslich vollkommen eingezogen, so fällt der Wulst auf dem optischen Querschnitt als zwei glänzende, an der Spitze des Armes liegende Knötchen sofort in die Augen (Fig. 7, *a*). Diese Tentakelchen gleichen genau den Spitzen der Fingerchen, welche sich in grösserer Anzahl an jedem Arme des *Dendrocometes paradoxus* finden, nur sind sie etwas grösser (0,0025 mm im Durchschnitt) und daher leichter in ihrem Bau und ihrer Wirkungsweise zu erforschen. Bei der zuletzt genannten Acinete ist demnach augenscheinlich jeder Arm aus der Verschmelzung mehrerer solcher Tentakeln hervorgegangen, wie sie uns noch jetzt bei *Asellicola* entgegen treten. Der *Dendrocometes* repräsentirt auch insofern ein höheres Stadium der Differenzirung, als jeder von einem Fingerchen ausgehende Kanal eine eigene zarte Wandung besitzt und mittels dieser tief in den Zellkörper eindringt. — Die Tentakelchen der *Asellicola* sondern sehr wahrscheinlich eine klebrige Substanz aus, denn ich habe öfters bemerkt, dass sehr kleine Flagellaten an denselben hängen blieben, ohne doch mit der vorderen Oeffnung in Berührung zu kommen und ausgesogen zu werden. Bei derartigen kleinen Organismen wird die Nahrung einfach mittels des Tentakelchens in den Armkanal gepumpt. Für die Bewältigung grösserer Beutestücke, z. B. kleiner Infusorien, scheint die Saugkraft desselben nicht zu genügen, denn in solchen Fällen schlägt unsere Suctorie noch ein anderes Verfahren ein (Fig. 9). Sie zieht den grössten Theil des ganzen Armes ein, sodass derselbe nur $^1/_4$ oder $^1/_3$ der ursprünglichen Länge aufweist. Auch das Tentakelchen schwindet völlig, und der Arm nimmt die Gestalt einer kurzen Röhre an, deren oberstes Ende sich etwas verbreitert und hier eine vielfach gefaltete und mit Runzeln versehene Wandung besitzt. Ganz entsprechend der Bewegung des Tentakelchens dehnt sich nun diese obere Partie des Armes etwas aus — wodurch die Falten verschwinden — und zieht sich wieder zusammen und bewirkt auf diese Weise, dass in wenigen Augenblichen kleine Organismen, z. B. Vorticellen, vollständig ausgesogen sind, sodass nur die Cuticula des gefangenen Thieres noch als eine leere Blase dem Arme ansitzt. Diese letztere von der klebrigen Armspitze zu entfernen, macht der *Asellicola* oft grosse Mühe. Sie hilft sich dadurch, dass sie das freie Armende zu einer kleinen schmalen Röhre ausdehnt (Fig. 9, *b*), diese dann plötzlich wieder einzieht und dabei die Blase abzustreifen sucht. — Durch die soeben geschilderte Ernährungsweise wird ein eigenthümliches Aussehen bedingt, das man bei unserer Acinete nicht selten beobachten kann. Man findet nämlich die untere Armregion dicht mit kleinen stabförmigen Bacterien bedeckt, die nur mit ihrem einen Ende aufsitzen, im übrigen aber schräg nach oben und aussen abstehen

(Fig. 9, 10). Dieser fremdartige Ueberzug hört bei allen Armen in derselben Höhe auf, die ungefähr der Grösse entspricht, welche jene beim Verzehren ansehnlicherer Beutestücke annehmen. Offenbar vermögen sich die Bacterien nur an den proximalen Theilen der Arme festzusetzen, weil die distalen zu oft bei der Ernährung eingezogen werden. — Hinsichtlich der Stellung und Gruppirung der Arme wird die *Asellicola digitata* von keiner Gesetzmässigkeit beherrscht. Sie können überall auf der Oberseite des Körpers hervorsprossen und auch ganz unabhängig von einander wieder eingezogen werden. Nicht selten trifft man völlig armlose Individuen an. Das Hervorstülpen der Saugorgane nimmt einige Stunden in Anspruch, vollzieht sich also ziemlich langsam. Während der Fortpflanzung verschwinden dieselben meist nur in der nächsten Umgebung der Austrittsöffnung des Schwärmsprösslings. Ist das Thier jedoch gezwungen, bei der Häutung des Kiemenblattes seinen bisherigen Wohnort zu verlassen, so zieht es vorher sämmtliche Arme ein und entfernt sich auf eine Weise, die ich weiter unten ausführlich schildern werde. Bei den in Conjugation befindlichen Individuen findet man meist die Arme unverändert, zuweilen sind sie jedoch nur halbseitig, auf der rechten oder der linken Körperhälfte entwickelt, ohne dass übrigens die zwei miteinander verbundenen Thierchen sich hierin zu entsprechen brauchten (Fig. 16). Schliesslich sei noch bemerkt, dass die Saugröhren bei ihrem ersten Auftreten in der Gestalt blasser, schmal-kegelförmiger Körperfortsätze (Fig. 7, *b*) noch kein Tentakelchen besitzen. Sobald sie dagegen ungefähr ein Drittel oder die Hälfte ihrer definitiven Grösse erreicht haben, erscheint auch jenes einstülpbare Endglied.

Hinsichtlich der Fortpflanzung der *Asellicola* kann ich mich kurz fassen, weil sie ganz derjenigen des *Dendrocometes paradoxus* gleicht, die ich früher ausführlich beschrieben habe. Freilich ist die Knospenbildung hier bei weitem nicht so leicht zu beobachten, als bei jenem Ektoparasiten des *Gammarus pulex*, weil das Plasma der *Asellicola* in der Regel viel dichtkörniger und undurchsichtiger ist. Die Anlage der Schwärmknospen wird zuerst in dem Auftreten einer zweiten contractilen Vacuole unter der Mitte der Dorsalfläche bemerkbar. Es bildet sich sodann vom Rücken her eine flaschenförmige Einstülpung, die schliesslich durch Verwachsung der äusseren Oeffnung eine allseitig geschlossene, im Innern der Zelle gelegene Höhle erzeugt. Das nächste Stadium lässt beim Beobachter schon keinen Zweifel mehr aufkommen, dass wir es hier wirklich mit der Fortpflanzung zu thun haben. Man bemerkt einen ungefähr parallel mit der Basalfläche gelegenen, äquatorial die innere Höhle umziehenden Kranz langer Wimpern (Fig. 10), die unregelmässig hin- und herschlagen. Nach diesem ersten Cilienstreifen werden noch zwei weitere angelegt, und gleichzeitig wird der Boden der Höhle buckelartig emporgetrieben, sodass er sich der Decke bis auf einen kleinen Spalt nähert (Fig. 11). Schliesslich entsteht auf dem Rücken aufs neue eine Oeffnung, die in die Brusthöhle führt; die Knospe, d. i. jene aufgetriebene Partie, schiebt sich durch jene Oeffnung hindurch nach aussen und schnürt sich hierauf erst vom Mutterthiere ab. Auch die Kerntheilung findet erst im Momente des Freiwerdens der Knospe durch einfache Durchschnürung des etwas in die Länge gezogenen mütterlichen Nucleus statt. Die Stelle, wo sich das Tochterthier von der Mutter abtrennt, ist auf dem Rücken nicht genau fixirt, sondern liegt bald hier, bald dort.

Das frei bewegliche Jugendstadium der *Asellicola digitata* hat ungefähr die Gestalt des erwachsenen Thieres, nur ist die Rückenfläche flacher gewölbt und der Körper naturgemäss viel kleiner (0,048 mm lang, 0,02 mm breit) (Fig. 12, 13). Die ebene Unterseite trägt drei ovale Wimperkränze, welche in der Regel etwas schief und unsymmetrisch liegen und nicht genau dem Aussenrande parallel ziehen. Der eine Pol der Längsaxe des Schwärmers wird durch die Abchnürung vom Mutterthier fast immer etwas verändert; er erhält ein Grübchen oder auch wohl einen kurzen Höcker. An diesem Körperende gehen die Cilienstreifen der beiden Seiten nicht in einander über, sondern sind auf eine kleine Strecke hin unterbrochen. Im Innern des Schwärmers liegen ein länglich oder unregelmässig geformter Kern, eine contractile Vacuole und ausserdem nicht selten jene grünen Körner und Tinctinkörper, deren ich schon oben gedachte. Die Thierchen schwimmen unstät umher und setzen sich, sobald sie einen passenden Wohnort gefunden haben, sofort wieder fest. Sie gleichen den Knospen des *Dendrocometes paradoxus* fast vollständig und unterscheiden sich von denselben eigentlich nur dadurch, dass die Wimperkränze mehr nach dem Centrum der Unterseite vorrücken, während sie bei jener Acinete ganz dem Aussenrande ansitzen. Sie stimmen auch darin überein, dass zuweilen die Ventralfläche nahezu ebenso stark gewölbt ist als die Oberseite.

Hat sich die Schwärmknospe fixirt, so verliert sie auf eine nicht genauer festgestellte Weise ihre Cilien und geht durch Ausstülpung zarter Arme direct in die Gestalt des alten Thieres über. Auffallender Weise zeigt der Kern von Individuen, die, nach ihrer Grösse zu schliessen, noch nicht lange die sessile Lebensweise angenommen haben, gar nicht selten eine äusserst scharfe Längsstreifung (Fig. 14). Diese Anordnung der chromatischen Elemente im Kern scheint später wieder der gewöhnlichen Form eines feinen Maschenwerkes zu weichen, wenigstens beobachtete ich sie nie an alten Exemplaren. Auch bei den Kernen der Schwärmknospen habe ich sie vermisst. Ich muss es dahingestellt sein lassen, weshalb diese Kernstructur auftritt; jedoch ist es sicher, dass sie nicht im Zusammenhang steht mit Theilungserscheinungen der Acinete.

Wenn der *Dendrocometes paradoxus* gezwungen ist, sich bei der Häutung des Kiemenblattes einen neuen Wohnort zu suchen, so zeigt er, wie ich früher nachgewiesen habe, ein sehr eigenthümliches Verhalten. Er durchläuft sämmtliche Stadien der Knospenbildung und verwandelt sich unter Zurücklassung der Basalmembran und eines kleinen Bläschens plasmatischer Substanz in einen Embryo, der fast so gross ist wie das Mutterthier. Dieselbe Erscheinung kehrt auch bei der *Asellicola* wieder, sodass man auf Kiemenblättern, deren Oberhaut sich schon etwas abgehoben hat, gar nicht selten alle Individuen scheinbar in der Fortpflanzung begriffen antrifft. Ein Unterschied ist (ob immer?) nur insofern vorhanden, als das gesammte Plasma der Mutter in den Körper des Schwärmers übergeht, ohne gewisse Substanzreste zurückzulassen.

Den interessantesten Abschnitt in der Biologie der *Asellicola digitata* bildet die Conjugation derselben. Obwohl diese in vielen Punkten ihres Verlaufes mit dem gleichen Vorgange bei *Dendrocometes* übereinstimmt, so besteht doch zwischen beiden eine wesentliche Abweichung, die sehr zu Gunsten der Ansicht spricht, dass die Conjugation der Infusorien eine Art Vorstufe des Befruchtungsactes darstellt. Es kommt nämlich zu einem Stadium, in dem die Kerne beider Thiere längere Zeit dicht neben einander liegen, um sodann wieder auseinanderzuweichen, ein Process, der auf eine gegenseitige Beeinflussung der Kerne hindeutet. — Da die Asellicolen in der Regel nicht so dicht zusammensitzen, dass sie sich gegenseitig berühren und also direct mit einander verschmelzen können, so sind diejenigen Individuen, welche conjugiren wollen, fast immer genöthigt, sich durch einen Körperfortsatz mit einander zu verbinden. Sie bedienen sich hierzu eines der an einem Körperende befindlichen Arme, der dabei häufig enorm über seine gewöhnliche Grösse anwächst. Figur 15 stellt eine auf diesem Stadium befindliche Suctorie dar und lässt die Structur des Armes, namentlich das Vorhandensein eines centralen Längs-canales, sehr schön erkennen. Manchmal traf ich zwei Thiere neben einander sitzen, die beide einen solchen „Conjugationsarm“ aufwiesen, die also offenbar beide das Bestreben hatten, zu conjugiren, während in anderen Fällen nur einer der beiden Paarlinge die Verbindungsbrücke liefert. Die Conjugationsarme werden von den Asellicolen langsam hin und her bewegt, gleichsam tastend, bis sie ihr Ziel erreicht haben. Die Thiere werden augenscheinlich in hohem Maasse von der Begierde nach einer solchen Vereinigung beherrscht, denn man muss sich oft wundern über die Grösse der Canäle, die sie zu diesem Zwecke herstellen. Dieselben sind oft länger als jedes Einzelthier (Fig. 16). Sind beide Individuen glücklich mit einander in Zusammenhang getreten, so verschwindet der ursprünglich zum Ueberleiten der Nahrung bestimmte Plasmaspalt, und darauf wird der Conjugationscanal allmählich immer dicker, indem mehr Körpersubstanz von beiden Seiten in denselben übertritt (Fig. 17). Obwohl das Cytoplasma beider Thiere auf diese Weise sehr innig im Canal gemischt wird, erlischt doch nicht der Gegensatz der Individualitäten. Man erkennt dies daran, dass bei der geringsten Beunruhigung die Zellkörper sich in der Mitte des Canales von einander sondern und, von einer dünnen Hautschicht bedeckt, gegen einander legen. Da schwache Störungen der conjugirten Asellicolen bei der Lostrennung der Kiemenblätter fast unvermeidlich sind, so findet der Beobachter häufig genug in der Mitte des Canals eine senkrecht oder etwas schief stehende Scheidewand (Fig. 17), die aus jenen zwei an einander gepressten Hautschichten besteht. Sie verschwindet wieder, wenn die Paarlinge in günstige Bedingungen gebracht werden. — Hat nun in der geschilderten Weise die Verbindungsbrücke ungefähr die halbe Höhe der Individuen erreicht, so schwillt dieselbe in ihrer Mitte noch mehr an (Fig. 18), sodass manchmal bei jedem Paarling die ursprünglich im Centrum der Unterseite gelegene Haftscheibe durch die Verlagerung des Plasmas an das eine Körperende zu liegen kommt, und nun folgt das Stadium, welches ich schon oben kurz andeutete und das unser höchstes Interesse in Anspruch nimmt: die Kerne beider Paarlinge, welche bis dahin keine Veränderung erkennen lassen — höchstens, dass sie sich zuweilen etwas mehr in die Länge strecken (Fig. 17), — wandern in den Verbindungscanal und auf einander zu, krümmen dabei die sich gegenüberliegenden Enden — ungefähr $^1/_3$ der ganzen Länge — rechtwinklig nach unten um und legen sich in dieser Haltung dicht neben einander (Fig. 18). Ich habe nie Individuen angetroffen, deren Kerne sich direct berührten, sondern stets war eine schmale Plasmawand zwischen beiden, die zuweilen so breit war, dass sich jene oben erwähnte Hautschichtlamelle darin ausbilden konnte. Es wäre natürlich zu weit gegangen, wollte man die Möglichkeit einer vorübergehenden wirklichen Kernverschmelzung leugnen, denn es ist sehr gut denkbar, dass dieses Stadium der Conjugation mir nicht zu Gesicht gekommen ist. Andererseits liegt aber bis jetzt durchaus kein Grund vor, eine solche anzunehmen, ja dieselbe ist sogar sehr unwahrscheinlich, weil es unzweifelhaft ist, dass die Kerne während dieser Periode gegenseitiger Annäherung keine Structurveränderungen durchmachen. Nachdem die Nuclei nämlich sich eine Zeit lang — wie lange, vermag ich nicht anzugeben — gegenseitig beeinflusst haben, wandern sie wieder in ihre ursprüngliche Lage zurück und nehmen dabei auch wieder ihre alte Form an. Gleichzeitig tritt das Plasma aus dem Verbindungscanal in die eigentlichen Zellkörper zurück, jener wird in Folge dessen schmäler und schmäler (Fig. 16), reisst schliesslich in der Mitte durch und wird in seinen Resten gänzlich von den betreffenden Individuen eingezogen. Schon auf dem Zeitpunkte, welcher der Figur 16 entspricht — siehe das linke Thier derselben — oder erst nachdem die Paarlinge sich von einander getrennt haben, beginnen sodann die Kerne sich vielfach zu furchen und einzuschnüren und zerfallen endlich in eine Anzahl grösserer und kleinerer Stücke, welche durch den ganzen Zellkörper zerstreut sind (Fig. 19). Leider ist es mir nicht gelungen, die Regeneration des neuen Nucleus zweifellos festzustellen. Da sich die Asellicolen in der feuchten Kammer nicht lange am Leben erhalten lassen, war ich gezwungen, den Verlauf der Conjugation aus der Combination möglichst vieler Einzelstadien zu erschliessen, was bei der Einfachheit des ganzen Vorganges die Sicherheit unserer Erkenntniss kaum beeinträchtigen dürfte. Das Schlussstadium ist mir unglücklicher Weise nur einmal zu Gesicht gekommen, und danach scheint der neue Kern in jedem Paarling aus der Verwachsung der Bruchstücke des alten hervorzugehen. Bei *Dendrocometes* entsteht höchst wahrscheinlich der neue Kern in etwas anderer Weise: die Bruchstücke des alten lösen sich (sämmtlich oder nur theilweise?) im Plasma auf und scheiden sich als einen einheitlichen Körper wieder aus, ähnlich wie Krystalle aus ihrer Mutterlauge unter gewissen Bedingungen hervorwachsen. — Theoretisch wichtig ist eine Beobachtung, die ich öfters bei *Asellicola* gemacht habe, dass nämlich zuweilen drei Individuen mittels zweier Verbindungscanäle mit einander conjugiren. Es bleibt jedoch noch festzustellen, wie sich in diesem Falle der Nucleus des mittleren Thieres zu den beiden anderen Kernen verhält. — Die Conjugation ist bei unserer Acinete durchaus keine seltene Erscheinung, wie dies für fast alle anderen Infusorien gilt. Man kann auch bei ihr von einer Art „Epidemie“ reden, insofern man ziemlich sicher Paarlinge an allen Kiemenblättern eines Krebses findet, wenn sie an einem beobachtet wurden. In der Regel conjugiren mittelgrosse Individuen, während die ausgewachsenen der Knospenbildung obliegen.

III. Zwei neue *Lagenophrys*-Arten.

Die Untersuchung[1] der an den Kiemenblättern des *Gammarus pulex* lebenden *Lagenophrys ampulla* St. hatte mir gezeigt, dass diese Gattung wegen eines eigenthümlichen Vorganges, der bis jetzt noch bei keinem anderen ciliaten Infusor hat nachgewiesen werden können, eine besondere Beachtung verdient. Leider stand mir, als ich jene Beobachtungen machte, ein nur sehr ungenügendes Material zu Gebote, und so sah ich mich veranlasst, den Gegenstand neuerdings noch einmal wieder aufzunehmen. Nach Stein, welchem wir die erste Beschreibung der *Lag. ampulla* verdanken, soll diese Vorticelline an den Kiemen der Wasserassel besonders häufig vorkommen. Ich kann diese Angabe nicht bestätigen, denn obwohl ich eine sehr grosse Zahl jener Isopoden hieraufhin untersucht habe, traf ich nie eine *Lag. ampulla* auf denselben an, wohl aber zwei neue Arten dieser Gattung, welche im Folgenden eingehend geschildert werden sollen. Ich vermuthe daher, dass Stein dieselben auch schon gesehen, jedoch irrthümlicher Weise für identisch mit der auf dem Flohkrebs lebenden Lagenophrye gehalten hat.

Die grössere dieser beiden Vorticellinen (Taf. III, Fig. 20), welche den Namen *Lag. aselli* in Zukunft führen mag, findet sich stets nur auf der (in der natürlichen Haltung) unteren Seite der Kiemenblätter, während die kleinere, für die ich die Bezeichnung *Lag. aperta* vorschlage (Taf. III, Fig. 21), sich ausschliesslich auf der entgegengesetzten Fläche ansiedelt. Beide Species kommen zuweilen in so grossen Mengen auf den Respirationsorganen der Wasserassel vor, dass dieselben wie mit den Gehäusen derselben gepflastert erscheinen. Bei *Lag. aselli* ist es mir in solchen Fällen immer aufgefallen, dass fast alle Individuen gleich orientirt sind; die Schalenöffnung und der

---

[1] l. c. p. 211—215.

Wimperapparat sind gegen den hinteren oder den äusseren Rand des Kiemenblattes gekehrt, was offenbar mit der Richtung des über die Kieme gleitenden Wasserstromes zusammenhängt. — Beide Lagenophryen besitzen eine planconvexe Schale, welche mit der flachen Seite aufsitzt und an dem einen Ende eine Oeffnung zum Austritt des Peristomfeldes aufweist. Bei *Lag. aselli* sitzt dieselbe in der Mitte des etwas flacher abgerundeten Vorderrandes des Gehäuses, während sie bei *Lag. aperta* in der Regel ein wenig unsymmetrisch nach links verschoben ist. Bei jener Art ist bald der Längs-, bald der Querdurchmesser der Schale der grössere (0,068—0,08 mm) während bei dieser die Breite überwiegt (0,066 mm). Bei jungen Individuen ist die Schale überall gleichmässig dünn, bei älteren Exemplaren beider Arten ist dagegen der Schalenrand durch eine starke Verdickung ausgezeichnet, welche schmutzig-gelbbraun und ca. 0,0025 mm breit ist. Diese Färbung beschränkt sich bei *Lag. aselli* auf den dicken Saum der Hülse, greift hingegen bei *Lag. aperta* ausserdem auf die peripherischen Partien des Gehäuses über, wobei sie schnell von aussen nach innen an Intensität abnimmt. Ein weiterer Unterschied zwischen beiden Arten, durch den man sie — abgesehen von ganz jungen Individuen — sofort von einander unterscheiden kann, besteht darin, dass die Schale der *Lag. aperta* in bestimmter Weise gestreift ist. Vom Rande derselben laufen zarte Verdickungslinien nach innen, ungefähr so, wie Fig. 21 es veranschaulicht. Im Detail der Streifung kommen bei den verschiedenen Individuen kleine Schwankungen vor, bald lässt sich in der Mitte des Gehäuses eine Längslineirung von dem einen Pol zum anderen verfolgen, bald eine solche in querer Richtung, bald endlich sind alle Streifen in kleine Punkte aufgelöst. — Alle *Lagenophrys*-Species besitzen bekanntlich eine Schalenöffnung, deren Rand direct mit dem Zellkörper zusammenhängt. Sie zeigt bei den verschiedenen Arten Abweichungen, die besonders in der Systematik verwerthbar sind. Am einfachsten ist dieselbe bei *Lag. aperta* gestaltet; sie stellt hier einen ovalen Ring dar, der sich direct in die Randverdickung der Schale fortsetzt und auf seiner der Kiemenblattfläche zugekehrten Seite fast geradlinig und nicht so dick ist, wie auf der Oberseite. Das Thier selbst hängt nur an der Oberlippe des Schaleneinganges mittels einer dünnen Membran fest. Die ganze Oeffnung ist steif und daher nicht verschliessbar, wenn das Thier sich in sein Gehäuse zurückgezogen hat[1]). Dadurch tritt diese Art in einen Gegensatz zu allen anderen, bei denen die Lippen der Oeffnung

---

1) Daher der Speciesname *aperta*.

aneinandergepresst werden, sobald sich das Thier in seiner Hülse verbirgt. — Bei *Lag. aselli* wird die Unterlippe durch eine dünne glashelle Membran (Fig. 20 *m*) von halbmondförmiger Gestalt gebildet. Sie überragt den Schalenrand etwas nach vorn und ist in der Mitte häufig ein wenig eingekerbt. Da sie unbeweglich ist, wird der Verschluss der Schale ausschliesslich durch die zwei verdickten und gebogenen Leisten bewirkt, welche den Dorsalrand der Oeffnung bilden (Fig. 20 *l*).

Die Gestalt des Körpers der beiden von mir aufgefundenen Lagenophryen entspricht genau derjenigen der Hülse; doch sind die Thiere nur selten so gross, dass sie dieselbe ganz ausfüllen. Das Plasma besitzt überall dieselbe Structur und lässt eine besondere Rindenschicht nicht erkennen. Der Wimperapparat ist bei *Lag. aselli* länger gestielt als bei *Lag. aperta.* Die Form desselben bei der vorangestellten Art ist aus der citirten Figur ersichtlich, und es sei hier nur noch erwähnt, dass ich im Innern des Stieles jederseits einen zarten Faden von dem die Cilien tragenden Ringwulste bis dorthin, wo der Stiel in den eigentlichen Körper übergeht, verfolgen konnte (Fig. 20 *f*). Ich halte denselben für eine myophane Fibrille, welche das blitzartige Einziehen des Wimperapparates bewirkt. — Hinsichtlich der Schlundröhre (*oe*) und der contractilen Vacuole (*cv*) gilt für beide uns hier interessirenden Infusorien das, was ich früher bei *Lag. ampulla* angegeben habe. — Der Kern (*N*) der *Lag. aselli*, ein im lebenden Thiere nur selten zu erkennendes Gebilde, hat eine wurstförmige Gestalt und erstreckt sich etwas unterhalb der contractilen Vacuole quer durch die Zelle; seine Umrisse sind im Einzelnen manchen kleinen Schwankungen unterworfen. Besonders häufig besitzt das linke Ende des Kernes eine stiefelartige Configuration, während das rechte, in der Nähe der Vacuole liegende einfach abgerundet ist (Fig. 24, 25). Wieder in anderen Fällen sind beide Enden einander gleich und keulenartig angeschwollen (Fig. 22). Der Nucleus wird allseitig von einer dünnen Membran umgeben und zeigt im Innern die bekannte feinkörnige Structur. Von besonderem Interesse ist nur das Verhalten der Nucleoli, die übrigens nicht immer vorhanden zu sein brauchen. Sind sie, was gewöhnlich der Fall ist, in grösserer Anzahl anwesend, so liegen sie vorzugsweise in kleinen Nischen der Kernwandung (Fig. 22, 25). Erreichen sie dabei eine beträchtlichere Grösse (Fig. 25), so sind sie äusserlich gar nicht von dem einen Nebenkern[1]) zu unterscheiden, der allen Lagenophryen zukommt und dem Hauptkern ebenfalls dicht angeschmiegt zu sein pflegt. Die Figur 25 zeigt das Bild eines relativ recht bedeutenden Nucleolus bei stärkerer Vergrösserung. Man erkennt, dass die Kernmembran sich nicht auf die Nische fortsetzt, sondern das glänzende, homogen erscheinende Kernkörperchen liegt direct in einem von dem feinmaschigen Gerüstwerk des Kernes gebildeten Hohlraum. — Der Nebenkern ist rundlich oder spindelförmig und von homogenem Aussehen; er hat durchschnittlich einen Durchmesser von 0,005 mm und in Folge seines festen Gefüges einen matten Glanz. Er liegt vornehmlich in der Nähe des rechten Kernendes, doch auch häufig genug sonst irgendwo neben der Kernmembran oder in einer kleinen Vertiefung derselben, und da auch die Nucleoli zuweilen ein wenig aus ihren Nischen herausrücken, lässt er sich von diesen nicht immer mit Sicherheit unterscheiden. In einem solchen Falle giebt nur die Färbung darüber Aufschluss, welche Kügelchen als Kernkörperchen zu deuten sind, und welches als Nebenkern, denn der letztere färbt sich immer schwächer als die eigentliche Kernsubstanz, muss daher auch chemisch anders als diese zusammengesetzt sein. Nichtsdestoweniger scheint mir aus dem geschilderten Verhalten der Kernkörperchen hervorzugehen, in welcher Weise wir uns die Entstehung der Paranuclei der Infusorien zu denken haben; der Nebenkern ist in morphologischer Hinsicht ein modificirter Nucleolus und von solchen peripheren Kernkörperchen abzuleiten, wie sie bei *Lag. aselli* häufig zu finden sind.

---

[1]) Um terminologischen Verwechselungen vorzubeugen, erscheinen

Zu demselben Resultate führt auch das Studium des Kernes bei *Lag. aperta*. Derselbe besitzt nicht die wurstförmige Gestalt, die für den Nucleus aller übrigen *Lagenophrys*-Arten charakteristisch ist, sondern ist ein rundlicher, links von der Mündung des Oesophagus gelegener Körper (Fig. 21, *N*), der in einer besonderen Nische in der Regel ein sich etwas schwächer tingirendes Kügelchen, den Nebenkern (*n*), beherbergt. Im lebenden Thiere fällt der Kern nur als ein heller Fleck im Plasma auf. Die Structur desselben ist, wie bei *Lag. aselli*, bald eine gleichmässig feinkörnige, bald finden wir eine grosse Anzahl sehr kleiner Kernkörperchen, bald endlich erreichen einige derselben beträchtliche Dimensionen. In letzterem Falle liegen sie fast aus-

---

mir die Bezeichnungen: Hauptkern = Nucleus; Nebenkern = Paranucleus; Kernkörperchen = Nucleolus am zweckmässigsten. Wird einfach von „Kern" gesprochen, so ist darunter natürlich der Hauptkern zu verstehen.

schliesslich in Nischen der Kernwandung (Fig. 26, *a*—*e*) und lassen sich dann in ungefärbtem Zustande von dem Paranucleus nicht sicher unterscheiden. Der Kern hat überhaupt gar nicht selten die merkwürdige Tendenz, grössere Partien durch eine — wie mir scheint, allseitig ausgebildete — Furche von der Hauptmasse zu isoliren (Fig. 26, *a*, *d*); oder seine Oberfläche wird von unregelmässigen Furchen durchzogen, in denen ein oder mehrere Nucleoli liegen (Fig. 26, *c*, *e*). Auch der Nebenkern kann in mehrere Stücke zerfallen, die unter einander gleich oder verschieden gross sind.

Schon das Studium der *Lag. ampulla* bot mir Gelegenheit, eine merkwürdige Beobachtung Stein's zu bestätigen, der zu Folge diejenigen Thiere, welche auf einem in der Häutung begriffenen Kiemenblatte sitzen, dieses und ihre Schalen mit Hülfe eines neugebildeten Wimperkranzes verlassen und dabei regelmässig eine ziemliche Portion von Protoplasma ausstossen. Man kann diesen Process augenscheinlich nur so deuten, dass er bezweckt, gewisse Plasmamengen, welche abgenutzt und für den Stoffwechsel unbrauchbar geworden sind, periodisch aus dem Zellkörper zu entfernen. Ein solcher Vorgang ist meines Wissens bisher noch von keinem anderen Infusor bekannt, und ich war daher um so gespannter, wie sich die beiden neuen *Lagenophrys*-Species in diesem Punkte verhalten würden, als Stein denselben nur von *Lag. ampulla*, nicht aber von *Lag. vaginicola* und *Lag. nassa* erwähnt, obwohl er gerade die zweite Art verhältnissmässig genau beschrieben hat. Es hat sich nun herausgestellt, dass eine periodische Abschnürung von nicht mehr lebensfähigem Protoplasma in der That nicht allen Arten dieser Gattung zukommt. Sie findet sich ganz regelmässig auch bei *Lag. aselli*, fehlt dagegen *Lag. aperta;* letztere Thierform durchläuft dagegen periodisch einen anderen, ebenso merkwürdigen Process, den ich nur als Ausstossung von Nucleoplasmastücken deuten kann.

Merkt eine *Lag. aselli*, dass das von ihr bewohnte Kiemenblatt seine Oberhaut abzustreifen beginnt, so löst sie ihr vorderes Körperende theilweise von der Schalenöffnung, nimmt eine schiefe Stellung in ihrer Hülse ein und schnürt gleichzeitig eine kleine Portion Cytoplasma ab (Fig. 27). Dieser anfangs noch lebende Plasmarest bleibt an der dorsalen Lippe der Schalenöffnung hängen (Fig. 28), sodass das betreffende Individuum sich erst dann frei in seinem Gehäuse bewegen kann, wenn die Abschnürung vollendet ist. Das Thier verwendet zur Locomotion nicht etwa die Cilien des Peristomdeckels, sondern einen Kranz langer Wimpern, der gleichzeitig mit jener Substanzentäusserung auf der Unterseite entsteht und etwas unsymmetrisch gelagert ist (Fig. 27). Bei *Lag. aselli* vermochte ich nun ferner mit aller Sicherheit nachzuweisen, dass sich in jenem Plasmarest stets ein oder mehrere Kügelchen (Fig. 27, 28, *N'*) befinden, die, nach ihrer starken Tinctionsfähigkeit zu schliessen, nur aus dem Kern stammen können. Es findet also bei diesem Infusor periodisch eine Ausstossung grösserer Mengen von Cytoplasma und geringer von Nucleoplasma statt. Bei *Lag. ampulla* sind mir irgendwelche Kernstücke im Plasmarest nicht aufgefallen, und es muss daher einer nochmaligen Untersuchung vorbehalten bleiben, festzustellen, ob sie hier nur übersehen sind oder ob sie in der That fehlen. Leider habe ich bei *Lag. aselli* nicht ermitteln können, wie diese Kernrudimente in den Plasmarest hereingelangen. Thatsache aber ist, dass sie stets vorhanden sind und sich vielfach auch dann noch durch Färbung nachweisen lassen, wenn die vom Infusor abgetrennte Zellportion bis auf die zarte, zusammengeschrumpfte Membran längst zerfallen ist. Eine Verwechslung mit Fetttröpfchen, an die man wegen des matten Glanzes jener Kügelchen denken könnte, ist auch ausgeschlossen, denn sie schwärzen sich nicht bei Behandlung mit Osmium. Eine besondere Structur konnte ich in ihnen nicht erkennen; sie erscheinen vielmehr homogen und gleichen äusserlich vollständig den Nucleoli oder dem Nebenkern. Da nun der letztere in dem betreffenden Individuum noch deutlich nachweisbar ist (Fig. 27, *n*), und da ferner der Hauptkern sich während des Wohnortwechsels nicht merklich verändert, so halte ich jene Kernstückchen des Plasmarestes vermuthungsweise für periphere Kernkörperchen, die aus ihren Nischen herausgewandert sind. Figur 28 zeigt in anschaulicher Weise, zu welch beträchtlicher Grösse die Plasmareste zuweilen anwachsen können, und wie dieselben anfangs der ganzen Dorsallippe der Schalenöffnung ansitzen. Mit zunehmendem Zerfall ziehen sich dieselben auf die eine (fast ausnahmslos die rechte) Seite derselben zurück. — Die frei umherschwimmenden Individuen der *Lag. aselli* besitzen am vorderen Körperpole schon dieselben Einrichtungen (eine halbkreisförmig vorspringende dünne Membran und zwei darüber liegende verdickte Leisten), welche oben von der Schalenöffnung geschildert werden (Fig. 27). Es folgt daraus, dass dieselben eigentlich nicht zur Hülse, sondern zum Thiere selber gehören. Bemerkenswerth ist ferner, dass der Kern des bewegungsfähigen Thieres eine U-förmige Gestalt annimmt und mit seiner Hauptmasse sich in die Richtung der Längsaxe stellt, anstatt, wie früher, parallel der Queraxe gelagert zu sein. Es liegt hier offenbar eine Anpassung an die enge Schalenöffnung vor, durch welche unser

Thierchen sich hindurchpressen muss, ehe es seine Locomotionsfreiheit verwerthen kann. Beim Verlassen der Hülse schiebt sich die *Lagenophrys* stets mit dem hinteren Körperpole voran durch die Oeffnung.

Lag. aperta ist ebenfalls gezwungen, ihren Wohnsitz zu verändern, sobald das betreffende Kiemenblatt sich häutet. Sie erhält, wie die andere Art, auf der Unterseite einen Kranz langer Wimpern; Plasma und Kern bleiben dagegen unverändert, eine Substanzentäusserung findet hier also nicht statt. Wie oben schon kurz angedeutet wurde, habe ich dagegen viele Individuen dieser Art angetroffen, die ebenfalls Portionen ihrer Kernsubstanz auszustossen schienen. Dieser Process fällt aber nicht mit der Häutung des Respirationsorganes zusammen, oder doch wenigstens nicht mehr und nicht minder, als jede andere Phase aus dem Leben einer *Lagenophrys* mit jener Erscheinung coincidirt. Die Figuren 29 *a*—*g* (Taf. IV) stellen verschiedene Stadien dieses eigenthümlichen Vorganges dar, den ich übrigens nicht an einem und demselben Kerne in continuo habe beobachten, sondern nur durch Combination verschiedener Bilder habe erschliessen können. Es liegt dies an der Beschaffenheit des Nucleus, der im lebenden Thiere nur undeutlich als eine hellere Partie im Plasma auffällt und daher sich nicht sicher von Vacuolen unterscheiden lässt. Die abgebildeten Lagenophryen, welche im übrigen von den normalen Individuen nicht abweichen, zeigen — mit Ausnahme von 29 *d* — sämmtlich in der linken vorderen Ecke des Körpers einen Kern mit Nebenkern von gewöhnlicher Structur; ausserdem aber besitzen sie in der rechten Zellhälfte 1—4 andere Nucleusstücke von sehr verschiedener Grösse und unregelmässig rundlichen Contouren. Sie haben in der Regel einen Durchmesser von 0,004—0,008 mm und liegen fast immer, bald einzeln, bald zu mehreren, in einer Vacuole, so dass man sie im ungefärbten Thiere unwillkürlich für Nahrungsballen hält. Sowie man freilich unser Infusor mit Carmin behandelt hat, ist eine solche Verwechselung gänzlich ausgeschlossen, denn jene rundlichen Ballen färben sich ebenso scharf und ausnahmslos wie der Hauptkern. Der Umstand, dass man dieselben nicht selten (Fig. 29 *d*, *g*) noch unmittelbar neben dem Nucleus liegen sieht, lässt wohl nur die eine Deutung zu, dass sie durch Abschnürung von jenem entstanden sind. Vielleicht stehen solche mit grösseren isolirten Portionen und mit Furchen versehene Kerne, wie sie in Figur 26 *d, e* (Taf. III) abgebildet wurden, in Zusammenhang mit dieser Erscheinung. Ueber das weitere Schicksal dieser Kernbrocken kann ich leider keine völlig sicheren Mittheilungen machen, weil man eben den ganzen Process nur an abgetödteten Exemplaren verfolgen kann. Ich vermuthe, dass dieselben nach und nach aus dem Zellkörper entfernt werden, und halte demgemäss den ganzen Vorgang für homolog mit jenen Ausstossungserscheinungen, die wir oben bei *Lag. aselli* kennen gelernt haben. Für diese Anschauung spricht erstens der Umstand, dass jene Kernbrocken fast regelmässig in Vacuolen angetroffen und in diesen langsam im Plasma hin und her bewegt werden. Sie ähneln hierin ganz den unverdaulichen Nahrungsresten, welche bei den Infusorien ebenfalls in Vacuolen nach aussen befördert werden. Zweitens weist die wechselnde Zahl, in der jene Kernstücke angetroffen werden, auf eine derartige allmähliche Ausstossung hin. Die ganze Erscheinung tritt, wie die Conjugation, epidemisch auf, d. h. es werden gleichzeitig immer mehrere Individuen von derselben ergriffen. Nicht selten beobachtete ich die überwiegende Mehrzahl aller auf einem Kiemenblatt sitzenden Lagenophryen in diesem scheinbar vielkernigen Zustande. Wenn nun von diesen Thieren einige vier Nucleusballen, andere drei, wieder andere nur zwei oder nur einen ausser ihrem Hauptkern besassen, so lässt sich, da der ganze Vorgang ja überhaupt nur vorübergehender Natur ist, nur ein successives Verschwinden derselben hieraus folgern. Endlich habe ich drittens in einigen wenigen Fällen, wie ich glaube, den Moment der Ausstossung direct beobachtet. In Figur 29 *b* (Taf. IV) liegt das eine Kernstückchen so unmittelbar neben der Schalenöffnung, als ob es im nächsten Augenblicke aus der Zelle entfernt werden sollte. Das in Figur 29 *e* abgebildete Thier lässt darüber keinen Zweifel, dass der eine Nucleusballen, von etwas Plasma umgeben, ausserhalb der Hülsenöffnung sich befindet. Leider bemerkte ich dieses Individuum erst nach der Abtödtung durch conc. Sublimat, wodurch ein genaues Erkennen des Wimperapparates und der jenes Kernstückchen umgebenden Plasmatheile unmöglich wurde. Da aber diese *Lagenophrys*, sowie alle übrigen auf demselben Kiemenblatt sitzenden einen ganz normalen Eindruck machte, so wäre es ganz unnatürlich, hier ein Kunstproduct zu vermuthen. — Der ganze Vorgang verläuft demnach wahrscheinlich in folgender Weise: von dem Hauptkern der *Lag. aperta* schnüren sich von Zeit zu Zeit mehrere, in der Regel 3—4, rundliche Ballen ab, die zusammen ungefähr so gross sind wie der zurückbleibende Rest des Kernes. Eine Veränderung des Paranucleus geht hierbei nicht vor sich. Um diese Ballen bildet das Cytoplasma vacuolige Räume und stösst sie nach und nach aus dem Zellkörper aus. Ob ein Verlust an Zellplasma hiermit Hand in Hand geht, oder ob dies nicht der Fall ist, muss weiteren Untersuchungen zur Entscheidung überlassen werden. Der eine oder der andere Leser könnte vermuthen, die geschilderten Kernveränderungen möchten Stadien der Conjugation darstellen, da diese bei den Infusorien ja ebenfalls epidemisch aufzutreten pflegt und vielfach zum Zerfall des Hauptkernes in kleinere Stücke führt. Obwohl mir nun der Verlauf der Conjugation genauer nur von *Lag. aselli* bekannt ist, halte ich dennoch eine solche Annahme für durchaus unzulässig; denn ich habe vielfach Individuen von *Lag. aperta* beobachtet, die offenbar sich in Conjugation befanden, da sie den entsprechenden Stadien der *Lag. aselli* vollständig glichen. Ausserdem bleibt bei dem hier behandelten Processe der Nebenkern völlig unverändert, was im Widerspruch steht mit allen bis jetzt über die Conjugation der Infusorien gemachten Erfahrungen. — Auch als einen Fortpflanzungsact, eine Theilung, lässt sich der in Rede stehende Vorgang nicht ansehen; wenigstens habe ich nie bemerkt, dass bei derartigen Individuen das Cytoplasma in 2 oder mehrere Portionen zerfallen war.

Die einzige Vermehrungsweise der Lagenophryen ist die Theilung. Stein glaubte, dass auch die Knospen sich zu jungen Thieren entwickelten, eine Anschauung, die nicht richtig ist. Die Knospen sind vielmehr, wie ich schon früher vermuthete und jetzt sicher nachweisen kann, nur zur Conjugation bestimmt. Die Theilungsebene verläuft bei allen Lagenophryen in diagonaler Richtung durch den Zellkörper. Bei *Lag. ampulla* und *aselli* sah ich sie stets links von der Schalenöffnung beginnen, so dass die linke Theilhälfte einen neuen Wimperapparat, eine contractile Vacuole und einen auf der Unterseite gelegenen Cilienkranz erhält; bei *Lag. aperta* wird umgekehrt die rechte Plasmahälfte mit jenen Neubildungen ausgerüstet. Von einigem Interesse ist im übrigen nur der Umstand, dass der Kern der *Lag. aperta* vor der Theilung diejenigen Umrisse annimmt, welche für den Nucleus der andern *Lagenophrys*-Arten characteristisch sind: er wird wurstförmig (Fig. 30), schnürt sich dann in der Mitte durch, und seine beiden birnförmigen Theilstücke gehen darauf wieder in eine runde Gestalt über. Seine Structur ändert sich hierbei nicht, sondern bleibt stets gleichmässig feinkörnig. — Von den beiden aus der Theilung hervorgehenden Individuen entfernt sich nur dasjenige mit dem ventralen Wimperringe. Das andere bleibt im Besitz der alten Schale und zieht sich von der vorderen Oeffnung derselben nur so weit zurück, als es erforderlich ist, um das Schwesterthier aus der Hülse herauszulassen. So sah ich einmal, dass eine *Lag. aselli* nur die dorsale Lippe der Oeffnung freigab, an der ventralen hingegen kleben blieb, und über jenes Thier hinweg schob sich das zweite Individuum mit dem hinteren Körperende voran ins Freie. — Schliesslich habe ich hier noch zu erwähnen, dass mir einmal ein abnormer Fall vorgekommen ist, wo eine sehr grosse *Lag. aselli* sich gleichzeitig in drei verschieden grosse Tochterthiere getheilt hatte (Fig. 31). Zwei derselben, die durch echte Quertheilung aus einer Plasmaportion hervorgegangen zu sein schienen — füllten die rechte Schalenhälfte aus, das dritte die linke. Nur an dem letzteren liess sich ein Wimperapparat deutlich erkennen. Alle drei Individuen besassen einen Nebenkern; die Hauptkerne waren bei zweien derselben normal gebaut, bei dem dritten in drei Stücke zerfallen.

Die Conjugation zerfällt bei allen Lagenophryen in zwei von einander sehr verschiedene Vorgänge, in die Bildung der Conjugationsknospen und in die eigentliche Conjugation, d. h. die Copulation einer oder mehrerer Knospen mit einem normal gebauten Thiere. Ob beide Processe an demselben Individuum vorkommen, oder ob bei dieser Gattung ein sexueller Gegensatz zwischen Thieren, die nur Knospen bilden, dagegen nicht mit Knospen anderer Individuen copuliren, und solchen, die nur für das letztere bestimmt sind, ohne je derartige Schwärmstadien zu entwickeln, vorhanden ist, lässt sich zur Zeit noch nicht entscheiden. Am wahrscheinlichsten erscheint die erste Annahme, weil man nicht selten an einem Kiemenblatt fast sämmtliche Bewohner in der Knospenbildung, an einem anderen in Conjugation antrifft, was schwer erklärlich wäre, wenn die Lagenophryen theils nur zur Knospenbildung, theils ausschliesslich zur Copulation befähigt wären. Hält man die Conjugation für gleichwerthig mit dem Befruchtungsacte der Eier, der Metazoen — und gerade für die Lagenophryen lässt sich ein solcher Vergleich noch am leichtesten durchführen — so wären demnach die Individuen dieser Vorticellinen-Gruppe zeitweilig männlicher, zeitweilig weiblicher Natur, resp. geschlechtlich indifferent, so lange sie sich nur durch Theilung fortpflanzen.

Die Knospenbildung der *Lag. aselli* wird, wie ich dies schon früher von *Lag. ampulla* angegeben habe, durch einen Zerfall des Hauptkernes in zahlreiche (c. 40—50) Kügelchen eingeleitet. Sodann wölbt sich die links neben der Schalenöffnung gelegene Körperpartie in Gestalt eines flachen Buckels hervor (Fig. 32). Eine Anzahl Kernkugeln treten in die so angelegte Knospe über, und dieselbe schnürt sich, nachdem eine contractile Vacuole in der Mitte des Körpers sichtbar geworden ist, vom Mutterthiere ab. Der Schwärmer (Fig. 33 *a*) hat eine ovale bis eiförmige Gestalt und schwimmt mit Hülfe eines Cilienkranzes, der parallel zur Längsaxe den einen der seitlichen Körperpole umzieht, in der Schale umher. Die der Knospe angehörigen Kernkugeln, deren Zahl in der Regel zwischen 3—10 schwankt, verwachsen hierauf wieder zu einem einheitlichen, stabförmigen oder rundlichen Nucleus, und der gleiche Vorgang spielt sich auch an den Kernkugeln des Hauptthieres ab, wobei übrigens häufig zuerst zwei Kerne gebildet werden, die nachträglich mit einander verschmelzen (Fig. 33 *d*). Die in der geschilderten Weise entstandene Schwärmknospe ist noch nicht copulationsreif. Sie theilt sich zunächst aufs neue, und zwar je nach ihrer Grösse einmal oder zweimal, sodass also zwei, resp. vier Conjugationsschwärmer aus der ursprünglichen Knospe hervorgehen. Die Theilungsebene steht senkrecht zum Cilienkranze (Fig. 33 *b*), und der ganze Vorgang macht sich schon etwas früher durch das Auftreten einer zweiten contractilen Vacuole bemerkbar. In dem fertigen Schwärmer habe ich nur einen Nucleus, aber keinen Nebenkern beobachtet. Da aber während des Zerfalls des Hauptkernes der Mutter der Paranucleus derselben sich der Wahrnehmung entzieht, ist es nicht unmöglich, dass auch Nebenkernderivate in die Knospe übertreten. — Die Schwärmerbildung der *Lag. aperta* verläuft genau so, wie sie soeben von *Lag. aselli* geschildert wurde. Auffallend ist mir nur, dass bei derselben der Nucleus nicht selten bloss in einige wenige (c. 6—10) Kugeln zerfällt, die sich auch nicht durch den ganzen Zellkörper zerstreuen, sondern dicht bei einander an der Stelle des früher einheitlichen Kernes liegen bleiben. — Zuweilen theilt sich die Knospe der *Lag. aselli* schon einmal, ehe sie sich von der Mutter ganz losgelöst hat. Fig. 34 stellt einen solchen Fall dar. Das obere Theilstück der Knospe ist nur halb so gross wie das untere; durch eine nochmalige Theilung des letzteren würden im Ganzen drei Schwärmer resultiren, was ich in der That dann und wann bei Thieren beobachtet habe, die noch vollständig mit der Schalenöffnung zusammenhingen, also vermuthlich ihren Knospen noch keine Gelegenheit zum Ausschlüpfen gegeben hatten. — Einige Male ist mir auch eine besondere Modification der Knospenbildung zu Gesicht gekommen, die von Interesse ist, weil sie uns einen Fingerzeig giebt, wie man sich phylogenetisch die Entstehung eines solchen Vorganges zu denken hat. Ich traf nämlich Lagenophryen (Fig. 35), die an der linken Seite eine deutliche Knospe mit contractiler Vacuole angelegt hatten, deren Kerne aber nicht zerfallen waren, sondern mit ihrem einen Ende in die Knospe hereinragten. Bei der Abschnürung der Knospe gelangt jenes kurze Stück des Nucleus in dieselbe. Der vordere Pol des 0,017 mm grossen Schwärmers ist viel dichter mit Cilien besetzt, als es normaler Weise der Fall ist. Da jedoch eine besondere

Mundöffnung fehlt, können derartige Thierchen auch wohl nur zur Copulation bestimmt sein. Die Conjugationsschwärmer entstehen also zuweilen durch eine echte Theilung, bei der freilich sehr ungleich grosse Individuen von einander getrennt werden, und erinnern durch ihren rudimentären Wimperapparat an die aus einer normalen Theilung resultirenden Lagenophryen. Sie machen es wahrscheinlich, dass die Conjugation ursprünglich zwischen völlig gleichartigen Individuen stattfand und erst auf einer weiteren Differenzirungsstufe zur Ausbildung kleiner, mundloser Schwärmer führte.

Die eigentliche Conjugation wird dadurch eingeleitet, dass ein oder auch wohl zwei Schwärmer, die auf irgend eine Weise in die Schale einer *Lagenophrys* eingedrungen sind, mit dieser verwachsen (Fig. 36) und ihren Kern in sie übertreten lassen. Es scheint hierbei nur auf die Ueberführung der Nucleussubstanz des Schwärmers in das Hauptthier anzukommen, denn ich fand zuweilen vorgeschrittenere Conjugationsstadien, denen äusserlich noch der oder die Knospen als faltige, ziemlich viel Plasma enthaltende Säckchen ansassen (Fig. 37). Gleichzeitig mit der Copulation des Schwärmers treten auch am Hauptthier die ersten Veränderungen auf. Der Nebenkern desselben wächst zu einem relativ sehr grossen, spindelförmigen, anfangs feinkörnigen, später streifigen Körper heran (Fig. 36). Sodann theilt er sich in zwei Spindeln, während der Hauptkern in eine Anzahl verschieden grosser Kugeln zerfällt (Fig. 38). Die nun folgenden Stadien verlaufen nicht bei allen Thieren in derselben Weise. In einzelnen Individuen scheinen die Nebenspindeln sich noch weiter zu theilen, während die Bruchstücke des Hauptkernes sich im Plasma sämmtlich auflösen. Ein Beispiel hierfür bietet das in Figur 39 nach Sublimat-Behandlung abgebildete Thier, denn in diesem waren auch nach der Färbung nur 6 Nebenkernspindeln, aber keine Nucleusstücke zu erkennen. In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle bleibt dagegen ein grosser Theil der letzteren (vielleicht sogar alle) während der ganzen Conjugation erhalten und betheiligt sich später direct an dem Aufbau des neuen Kernes. Man trifft dann in den Lagenophryen viele sich stark färbende Kugeln, von denen einige — bis zu 8 — sich durch besondere, unter einander so ziemlich übereinstimmende Grösse (0,0068 mm) auszeichnen (Fig. 40 *a—d*). Diese letzteren halte ich für modificirte Nebenkernspindeln und glaube, dass der neue Kern entweder aus diesen allein durch Verwachsung entsteht — wobei natürlich nicht ausgeschlossen ist, dass die im Plasma gelöste Substanz der Nucleusbruchstücke auch verwerthet wird — oder aus der Verschmelzung der

Derivate des Nebenkernes und des Hauptkernes hervorgeht. Sind jene grösseren Kugeln in der That Produkte des Paranucleus, so kann es nicht zweifelhaft sein, dass dieselben in erster Linie an dem Aufbau des neuen Kernes betheiligt sind.

IV. *Epistylis simulans n. sp.*

An den Kiemenblättern des *Asellus aquaticus* fand ich sehr häufig eine kleine *Epistylis*-Art, welche mit der von Wrześniowski [1]) als *Ep. steinii* beschriebenen Species die grösste Aehnlichkeit besitzt. Beide Formen haben dieselbe Körpergestalt, dieselbe Grösse und einen gleich gebauten Kern, und ich würde kein Bedenken tragen, dieselben für identisch zu erklären, wenn nicht der Stiel des von mir beobachteten Infusors eine sehr deutliche Längsstreifung aufwiese, deren Wrześniowski nicht gedenkt. Da der letztere Forscher den Stiel seiner *Ep. steinii* eingehend schildert, so ist wohl kaum anzunehmen, dass hier ein Beobachtungsfehler vorliegt, sondern sehr wahrscheinlich unterscheidet sich die Bewohnerin der Wasserassel durch jene Structur von der ihr im Uebrigen sehr nahe stehenden Vorticelline des *Gammarus pulex* und darf daher auch wohl als eine besondere Species — wenigstens vorläufig — angesehen werden.

Ausser dieser Längsstreifung besitzt der Stiel der *Ep. simulans* auch noch eine unregelmässige quere Ringelung (Fig. 42). Dieselbe hat ihren Sitz in der oberen Membran, welche den Stiel von aussen umgiebt, und ist nur der Ausdruck von Falten und Runzeln, die sich in ihr — häufig in ziemlich regelmässigen Abständen — bei allen älteren Exemplaren bilden. Das Innere des Stiels scheint mit einer Gallerte erfüllt zu sein, die in ihrer ganzen Länge jene fibrilläre Structur aufweist. In der Axe des Stieles verläuft ausserdem ein Faden, der von unten nach oben an Stärke zunimmt und unter Bildung einer kegelförmigen Anschwellung in den Körper der *Epistylis* übergeht. Obwohl ich nichts von einer pinselförmigen Ausstrahlung desselben im Zellkörper wahrzunehmen vermochte, bezweifle ich doch nicht, dass dieser Strang dem Stielmuskel einer Vorticelle homolog ist. Derselbe ist hier rudimentär geworden oder hat wenigstens seine ursprüngliche Function einer contractilen Fibrille verloren und dient

---

1) P. Wrześniowski, Beiträge zur Naturgeschichte der Infusorien, in: Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 29, p. 280.

jetzt nur als Befestigungsmittel. Die *Epistylis simulans* vermag nämlich nicht, ihren Stiel irgendwie zu verändern, und die Querfalten desselben sind daher nicht die Folge einer Contraction jenes Muskels. Ich vermuthe, dass sie durch die Art des Wachsthums des Stieles bedingt werden.

Der übrigen Organisation unseres Infusors habe ich keine genaue Beachtung geschenkt. Es sei daher hier nur noch erwähnt, dass dem wurstförmigen Nucleus kein Nebenkern anliegt, und dass in der Nähe des hinteren Körperpoles eine ringförmige, querliegende, myophane Fibrille, wie bei manchen anderen Vorticellinen, vorhanden zu sein scheint. Ich habe sie wegen ihrer Zartheit nicht direct erkennen können, aber ihre Existenz wird durch häufige Contractionen, welche eine Ringfurche hervorrufen, sehr wahrscheinlich gemacht. Ueber diesem Ringe bildet sich ein Kranz von Cilien, wenn die *Epistylis*, wie dies nicht selten vorkommt, ihren Wohnsitz verlassen will. — Das hinter dieser Fibrille gelegene Plasma unterscheidet sich sehr auffallend von der vor ihr befindlichen Körpersubstanz; es ist besonders dichtkörnig, und die so beschaffene hinterste Körperregion, welche nach vorn eine muldenförmige Vertiefung bildet, erscheint daher viel dunkler als das übrige Cytoplasma (Fig. 43).

An unserem Thierchen interessirte mich vor allem die Conjugation. Dieselbe ist bei *Epistylis simulans*, abweichend von fast allen übrigen Ciliaten, eine keineswegs seltene Erscheinung, sondern ich begegnete ihr auf Schritt und Tritt. Stets wird eine grössere Anzahl von Thieren — häufig so ziemlich alle Individuen, soweit sie dasselbe Kiemenblatt bewohnen — von ihr ergriffen, und ein einziges solches Blatt genügt dann, um dem Beobachter ungefähr alle Stadien zu zeigen. Der Vorgang zerfällt, wie bei *Lagenophrys*, in zwei sich auf verschiedene Individuen vertheilende Abschnitte, in die Bildung der Conjugationsschwärmer und in die eigentliche Copulation. — Wie die Conjugationsknospen entstehen, habe ich im Einzelnen nicht verfolgt. Ich kann nur angeben, dass dieselben sich stets von dem basalen Körperende ihrer Mutter abschnüren (Fig. 41) und sich von dieser nur durch die sehr viel geringere Grösse, durch das Fehlen einer Mundöffnung und einer Schlundröhre, sowie durch die rudimentäre Ausbildung des vorderen Wimperapparates unterscheiden. Sie besitzen einen kleinen wurstförmigen Kern, eine pulsirende Vacuole und ferner in der Nähe des hinteren Körperpoles die oben erwähnte contractile Ringzone, über der in einer Furche die Cilien auftreten, mit deren Hülfe das Thierchen fortschwimmt. Wie bei der gewöhnlichen Fortpflanzung durch Längstheilung der rudimentäre Stielmuskel in zwei, mit einander in Zusammenhang bleibende, kurze Aeste sich gabelt, so läuft auch zur Conjugationsknospe ein Seitenzweig jener Fibrille (Figur 41). Dieselbe ist auch offenbar eng mit dem Körper derselben verbunden, denn gar nicht selten zieht sie sich bei der Loslösung des Schwärmers zu einem Faden aus, der fast so lang ist wie jener selbst. Die Knospe zerrt dann an dem Faden herum, bis es ihr glückt, denselben zu zerreissen. — Der Conjugationsschwärmer ist, wie schon oben erwähnt wurde, auch mit einem rudimentären vorderen Wimperapparate ausgerüstet. Das Peristom bildet nämlich eine enge Oeffnung (Fig. 41), welche in eine spaltförmige Höhlung führt. Der Boden derselben ist dicht mit kleinen Cilien bedeckt und entspricht, da er auch etwas hervorgewölbt werden kann, offenbar einer reducirten Wimperscheibe. Diese Deutung folgt auch aus dem Umstande, dass jene Wimpern beim Mangel einer Mundöffnung nicht zum Herbeistrudeln von Nahrung und wegen ihrer geringen Grösse auch nicht zur Locomotion verwerthet werden können, daher augenscheinlich functionslose Gebilde sind. Ihre Anwesenheit wird nur verständlich, wenn man sie für homolog mit dem vorderen Wimperapparate der normalen Individuen hält, woraus dann weiter derselbe Schluss zu ziehen ist, wie oben bei der Gattung *Lagenophrys*, dass nämlich höchst wahrscheinlich die Conjugation ursprünglich zwischen völlig gleichartigen Thieren stattfand.

Der Verlauf der eigentlichen Conjugation, die Verschmelzung eines Schwärmers mit einem gewöhnlichen Individuum, gestaltet sich relativ einfach, weil ein Nebenkern nicht vorhanden ist. Die Schwärmer setzen sich mit ihrem hinteren Körperpole, der zu einer flachen Scheibe wird, einem grossen Thiere an und verwachsen mit demselben. Die Cilien der Knospe gehen auf nicht näher beobachtete Weise verloren, und noch ehe die Verwachsung beider Paarlinge so innig wird, dass das Plasma des kleineren in directe Berührung mit dem des grösseren kommt, also noch vor der Resorption der Cuticulae, zerfallen die Kerne beider Copulirenden in kleine, sich intensiv färbende Kügelchen. In der Knospe liegen ungefähr 10 derselben, im Hauptthier weit mehr, aber von derselben Grösse (Fig. 44, *a*). Zuweilen bemerkt man unter den Kernkugeln des Hauptthieres eine von besonderer Grösse (Fig. 44, *b*). Auf dem nächsten Stadium wird die Körpersubstanz des Schwärmers vollständig von der des andern Paarlings aufgenommen (Fig. 44, *c*), und nur die Cuticula des ersteren bleibt als ein faltiges Bläschen an dem letzteren hängen. Um diese Zeit lassen sich die Kernkugeln der

Paarlinge nicht von einander unterscheiden. Allmählich beginnen einige derselben, zunächst eine, dann eine zweite, schliesslich eine dritte und häufig auch eine vierte, an Masse zu wachsen, bis sie Kugeln werden, deren Durchmesser 0,005—0,008 mm betragen. Gleichzeitig wird die Zahl der kleinen Kügelchen immer geringer, was auf eine successive Auflösung derselben hinweist. Ich vermuthe, dass die im Cytoplasma gelöste Kernsubstanz dieser Gebilde das Material zum Wachsthum jener grossen Kugeln liefert. In der Regel verschwinden aber nicht alle von den kleinen Kugeln, sondern meist sind 5—10 derselben noch vorhanden, wenn die grossen zum neuen Nucleus unter einander verschmelzen. Jene lagern sich dann diesen an (Fig. 44, *g*) und gehen so ebenfalls in den neuen Kern über. In anderen Fällen lösen sich alle kleinen Kügelchen auf, ehe sich der Hauptkern regenerirt (Fig. 44, *h*, wo noch die Furchen zwischen den verschmelzenden Kugeln zu erkennen sind). Bei einigen wenigen Exemplaren habe ich ausserdem eine besondere Modification des ganzen Vorganges beobachtet; es trat nur eine Kugel von beträchtlicherem Umfange auf (Fig. 45), die zum neuen Kern heranwuchs. — Möglicherweise stammen die Kügelchen, welche sich bis zum Schluss nicht selten erhalten, aus dem Schwärmpaarling. Hierfür spricht ihre Zahl, doch lässt sich nichts Sicheres weder für noch gegen eine solche Annahme vorbringen, da die Kernstücke von Knospe und Hauptthier im Aussehen völlig identisch sind.

Der im Vorstehenden geschilderte Verlauf der Conjugation bei *Epistylis simulans* entspricht in allen wesentlichen Punkten demselben Vorgange bei *Vorticella microstoma* und *Epistylis plicatilis,* von dem wir eine vortreffliche Darstellung durch Engelmann [1]) besitzen. Man kann daher diesen Modus einstweilen ohne Bedenken als typisch für die nebenkernlosen Vorticellinen (im engeren Sinne) ansehen. Bei den einen Paranucleus besitzenden Infusorien dieser Gruppe verläuft die Conjugation im allgemeinen auch ebenso. Bütschli [2]) berichtet, dass bei *Vort. nebulifera* und *Carchesium polypinum* der Nucleus der conjugirten Thiere in zahlreiche Bruchstücke zerfällt, und dass der neue Kern aus einer Anzahl grösserer Kugeln reconstruirt wird, ganz ähnlich, wie ich dies oben von *Lagenophrys aselli* geschildert habe.

---

1) Th. W. Engelmann, Ueber Entwicklung und Fortpflanzung von Infusorien, in: Morph. Jahrb. I, p. 621 ff.

2) O. Bütschli, Studien über die ersten Entwicklungsvorgänge der Eizelle, die Zelltheilung und die Conjugation der Infusorien, in: Abhandl. der Senkenberg'schen naturf. Gesellschaft X, p. 234 des Separatums.

Bütschli hält es für sehr wahrscheinlich, dass die grösseren Kernkugeln aus dem einen (oder beiden?) Paranucleus hervorgehen, eine Ansicht, die auch für *Lagenophrys* zuzutreffen scheint. Ist dieselbe richtig, so liegt der wichtigste Unterschied in dem Verlauf der Conjugation bei Vorticellinen mit Nebenkern und solchen ohne diesen in dem verschiedenen Ursprung der grösseren Kernkugeln, die den neuen Kern — ausschliesslich oder wenigstens zum grössten Theil — aufbauen: bei jenen sind dieselben Paranucleusderivate, bei diesen modificirte Bruchstücke des alten Kernes. Ein principieller Gegensatz scheint mir hierin nicht zu bestehen, denn ich halte die Annahme für unabweisbar, dass in beiden Fällen jene Kugeln auf Kosten der im Plasma gelösten übrigen Theilstücke des alten Nucleus herauswachsen. Die Differenz läuft vielmehr nur darauf hinaus, dass bei den mit einem Nebenkern versehenen Infusorien diejenigen Kernelemente, welche während der Conjugation zum neuen Nucleus heranwachsen sollen, schon vor derselben als isolirte Gebilde vorhanden sind, wohingegen dieselben sich bei den nebenkernlosen Formen erst im Beginn der Conjugation von der Hauptmasse des Kernes sondern. — Zwischen der Conjugation von *Lagenophrys aselli* und der von *Epistylis simulans* besteht ein Unterschied, auf den ich hier kurz eingehen will: bei ersterer tritt der Kern des Schwärmers in toto, bei letzterer nach einem Zerfall in mehrere kleine Stücke in das Hauptthier über. Aber auch dieser Gegensatz schwindet, wenn man die Entstehungsweisen der Schwärmknospen sich bei beiden Arten vergegenwärtigt. Bei *Lagenophrys* tritt der Kernzerfall ein, während die Knospe sich anlegt, und der Nucleus des fertigen Schwärmers hat daher eine nochmalige innige Mischung mit seinem Cytoplasma — eine solche ist, wie mir scheint, der Zweck jedes während der Conjugation auftretenden Kernzerfalls — nicht mehr nöthig. Bei *Ep. simulans* ist mir zwar die erste Anlage der Knospe entgangen. Da aber in derselben und im zugehörigen Mutterthiere nie Kernbruchstücke bemerkt wurden, ist es unzweifelhaft, dass sie ebenso entsteht, wie Engelmann es für *Vorticella microstoma* nachgewiesen hat: der Nucleus des Hauptthiers wächst in die Knospe herein und wird dann bei der Loslösung derselben mit durchschnitten. Eine innige Durchdringung des Cyto- und Nucleoplasma findet hierbei nicht statt, sondern wird erst dann herbeigeführt, wenn sich die Knospe einen Paarling ausgesucht und sich an diesem fixirt hat.

V. *Heliochona sessilis* mihi, eine neue Vorticelline.

An den Kiemenblättern eines *Gammarus* aus der Nordsee habe ich eine neue Vorticelline gefunden, deren nächste Verwandten unter den Gattungen *Spirochona* und *Stylochona* zu suchen sind. Wie bei diesen Infusorien ist das vordere Körperende trichterartig erweitert und innen mit zahlreichen Cilien besetzt, welche die Nahrung herbeistrudeln. Das Thier möge den in der Ueberschrift genannten Namen führen, da für den Kopftrichter desselben ein sonnenartiger Besatz dünner, steifer Stäbchen characteristisch ist, die vom Rande ausgehen (Taf. IV, Fig. 49, 50, 51). Die *Heliochona sessilis* hat die Gestalt einer Flasche, deren Hals in jenen Trichter übergeht. Dabei ist jedoch der Querschnitt des Flaschenbauches und des Trichters nicht rund, sondern oval, so dass man zwei Schmal- und zwei Breitseiten unterscheiden kann. Mit dem unteren quer abgestutzten Körperpole sitzt das Infusor dem Kiemenblatte breit auf, und zwar vornehmlich der Fläche, weniger der Peripherie desselben. Die Länge beträgt von der Basis bis zum Beginn des Halses c. 0,034 mm, von hier bis zum Trichterrande 0,02 mm. Die Querachse der *Heliochona* bei der Breitenansicht misst c. 0,025 mm, während derjenigen der Schmalseite nur eine Länge von 0,007 mm zukommt. Der Körper ist überall von einer dünnen Cuticula bedeckt, die sich an der Anheftungsstelle durch besondere Zartheit auszeichnet. Von einigem Interesse ist an unserm Infusor nur der Trichter. Die eine Breitseite desselben — sie möge als Rücken bezeichnet werden — ist nämlich in zwei symmetrisch gestellte Lappen ausgezogen, die nach innen übergeklappt sind und den Hohlraum des Trichters theilweise überdecken (Figur 51). Ausserdem ist der ganze Rand des Trichters mit einer grossen Zahl starrer Stäbchen versehen, die so ziemlich in gleichen Abständen von einander stehen und sich als schwache Leisten noch eine kurze Strecke in der Trichterwand verfolgen lassen. Bei einigen Individuen konnte ich mich ganz sicher überzeugen, dass einige von diesen Stäbchen, ungefähr jedes vierte, noch einmal so lang waren als die dazwischen stehenden; bei andern war dagegen ein solcher Unterschied nicht festzustellen. Die von dem Trichterrand ausstrahlenden Radien fehlen nur auf der kurzen Strecke zwischen den beiden überhängenden Kelchlappen; auf diesen selbst sind sie dagegen vorhanden und bewirken, dass der Zugang zum Trichterraum theilweise versperrt ist. Nur die kleineren der herbeigestrudelten Nahrungspartikelchen können das

Lattenwerk jener Stäbchen passiren und in den am Grunde des Trichters befindlichen kurzen Oesophagus gelangen, und in diesem Umstande liegt offenbar der Vortheil jener Einrichtung. — Im Zellplasma fällt dem Beobachter leicht ein rundlicher, feinkörniger Kern auf, von einem Paranucleus habe ich dagegen nichts bemerkt. Die Fortpflanzung geschieht wie bei *Spirochona gemmipara* durch Knospen, welche sich an einer bestimmten Stelle der Bauchseite, an der Basis des Halses abschnüren (Fig. 49). Die näheren Einzelheiten dieses Vorganges habe ich aus Mangel an Material nicht verfolgen können.

VI. *Aegyria oliva* Cl. et Lach.

In seiner Abhandlung „Ueber Infusorien des Golfes von Neapel“ [1]) bemerkt Géza Entz von der *Aegyria oliva*: „Der Kern liegt unterhalb des Schlundes. Er ist ein recht grosser, heller, runder oder ovaler Körper mit einem Querspalt; an wechselnder Stelle seiner Oberfläche konnte ich einen runden Nebenkern ganz deutlich, auch ohne Anwendung von Reagentien unterscheiden.“ Dieser kurzen Beschreibung möchte ich noch Einiges hinzufügen, da der Nucleus dieses Infusors einen etwas ungewöhnlichen Bau aufweist. Er ist nämlich aus zwei, sich gegen Farbstoffe verschieden verhaltenden Hälften zusammengesetzt, in ähnlicher Weise, wie dies von *Spirochona gemmipara, Leptodiscus medusoides* und einigen Rhizopoden bekannt ist. Nach Abtödtung durch Osmiumsäure zeigt die eine Hälfte des Kernes ein dunkelkörniges Aussehen (Fig. 46, 3), während die andere nahezu homogen und hell erscheint (2) und nur an ihrem vordersten Pole eine ganz leichte Körnelung besitzt. Die Abschnitte 2 und 3 liegen eng an einander, sind aber durch eine deutliche Linie geschieden, so dass der von Géza Entz beobachtete Querspalt wohl nur ein Artefact gewesen sein kann. Bei Anwendung von Carminlösungen färbt sich die helle Kernhälfte ganz intensiv, die dunkele dagegen nur sehr schwach. Der Kern der *Aegyria oliva* verhält sich demnach gegen Farbstoffe gerade umgekehrt wie der der *Spîrochona gemmipara*, bei welcher die dunkelkörnige Partie die chromatische, die helle die achromatische ist. Es wäre interessant zu erfahren, ob auch bei jener Form die Kerntheilung so complicirter Natur ist wie bei dieser; denn wäre dieses der Fall, so würde man berechtigt sein, die getrennte Anordnung der chromatischen und der achromatischen Kernelemente als Ursache einer derartigen Mitose anzusehen.

---

[1]) in: Mittheilungen der zoolog. Station zu Neapel, Bd. V, 1884, p. 349.

VII. Bemerkungen über *Noctiluca miliaris* Sur. und das durch sie hervorgerufene Meerleuchten.

Während eines mehrwöchentlichen Aufenthaltes auf der Nordsee-Insel Borkum im Herbste 1886 habe ich die *Noctiluca miliaris* einer eingehenden Untersuchung unterworfen. Da jedoch erst neuerdings durch Bütschli [1]) unsere Kenntnisse von dieser viel beobachteten Cystoflagellate in vortrefflicher Weise zusammengestellt sind, will ich mich hier auf einige kurze ergänzende Notizen beschränken.

Ueber den Kern der *Noctiluca miliaris* lauten die Angaben der verschiedenen Forscher ziemlich abweichend. Robin — dessen neueste Arbeit über *Noctiluca* ich mir leider nicht verschaffen konnte, sodass ich seine Ansichten nur aus der Bütschli'schen Darstellung kenne — und Vignal [2]) halten ihn für völlig homogen, während Cienkowski [3]) seiner Binnensubstanz die Fähigkeit zuschreibt, sich in Fäden und Stränge auszuziehen, welche dem Beschauer im optischen Querschnitt als Kügelchen erscheinen. Nach meinen Beobachtungen ist der Nucleus ein von einer deutlichen Membran begrenztes Bläschen, dessen wasserklarer Inhalt zuweilen völlig homogen resp. nach Anwendung von Reagentien gleichmässig feinkörnig ist; in der Regel finden sich aber im Kern mehrere Nucleoli, die echte Kügelchen sind und keineswegs blos optische Durchschnitte von Plasmasträngen darstellen. Kerne, welche Cienkowski's Figur 12 entsprechen, habe ich nie gesehen und halte demgemäss solche Nuclei — ohne übrigens ihr Vorkommen bestreiten zu wollen — für nicht normal gebaut. — Der Kern der *Noctiluca* ist, wie allbekannt, dem sogenannten „Centralplasma" eingebettet. Dass er jedoch auch zuweilen, wie die übrigen Plasmakörner, passiv auf grössere Strecken hin und her bewegt werden kann, lehrten einige Individuen, bei denen er, weit vom Munde ent-

---

1) Bronn's Classen und Ordnungen. Bd. I: Protozoa, neu bearbeitet von O. Bütschli, 1885, p. 1030 ff.

2) W. Vignal, Recherches histol. et physiol. sur les Noctiluques, in: Arch. de Physiol. (2. Sér.), T. 5, 1878, p. 436.

3) L. Cienkowski, Ueber Noctiluca miliaris Sur., in: Arch. f. mikr. Anat., Bd. IX, 1873, p. 49.

fernt, in einer etwas dichtmaschigeren Portion des Plasmas lag[1]). — Hinsichtlich des sog. „Staborganes" schliesse ich mich ganz der Bütschli'schen Deutung an, der zufolge die Leisten desselben bloss durch eine besonders dichte Anheftung des Plasmas an der Körpermembran hervorgerufen werden. Legt man eine Noctiluca so, dass man von oben in die Mundöffnung hineinsieht und dabei die Bandgeissel vor der letzteren hat, so nimmt bekanntlich das Staborgan hinter dem Vestibulum in Gestalt zweier auf einander zulaufender Falten seinen Anfang. Ich glaube nun, dass sich auch vor der Mundöffnung eine gleiche Bildung wird nachweisen lassen. Zu dieser Vermuthung bin ich durch die Betrachtung der in Regeneration befindlichen Noctiluken geführt worden. Dieselben lassen nämlich sehr häufig nicht nur 3 mehr oder minder weit über die Körperoberfläche hervorragende Körner (Fig. 47; 48; *a, b, c*) erkennen, die den 3 Enden des Staborganes entsprechen, sondern noch zwei andere (*d* und *e*), die symmetrisch gruppirt, nicht weit von der Bandgeissel stehen und die ihre Entstehung doch sicherlich den gleichen Verhältnissen verdanken werden, wie die durch das Staborgan gebildeten Auswüchse. Leider habe ich es unterlassen, mich am lebenden Thiere hierüber zu orientiren. Die in Regeneration befindlichen Noctiluken sind in Folge ihres zusammengezogenen Plasmas specifisch etwas schwerer als die normalen Individuen; während diese in einem ruhig stehenden Gefässe an die Oberfläche des Wassers steigen, sinken jene zu Boden. Durchmustert man daher den Bodensatz, so erblickt man unter den in der Länge und Form der Hörner sowie im Körperumriss ausserordentlich variirenden Regenerationsthieren leicht auch solche fünfhörnige.

Es ist bis jetzt noch nicht sicher nachgewiesen worden, welche von den beiden Fortpflanzungsarten der Noctiluca die häufigere ist. Nach meinen Beobachtungen kann es nicht zweifelhaft sein, dass die Bildung von Schwärmern der Zahl nach die Fortpflanzung durch einfache Theilung übertrifft. Nur der Umstand, dass gewisse Stadien des letzteren Vorganges sich von der Conjugation, welche bei Noctiluca sehr häufig ist, auf den ersten Blick nicht unterscheiden lassen, erschwert die Erkenntniss des wahren Sachverhaltes. Ich habe eine grosse Anzahl bisquitförmiger Paare isolirt und eine Zeit lang controlirt; nur ganz wenige derselben waren in der Theilung begriffen, während alle übrigen schliesslich zu einem Individuum verschmolzen. Da man nun solche achtförmige Noctiluken ungefähr ebenso häufig antrifft, wie

---

1) Eine Verwechslung mit einer Vacuole ist ausgeschlossen.

Thiere mit einer Schwärmerplatte, so folgt hieraus ein beträchtliches numerisches Uebergewicht der Knospung über die einfache Theilung.

Ueber den Verlauf der Conjugation im Einzelnen sind wir durch Cienkowski schon gut unterrichtet. Die beiden Paarlinge sind fast immer gleich gross und gehören in der Regel zu den mittelgrossen oder kleinen Individuen; da nun andererseits die in der Schwärmerbildung begriffenen Noctiluken meist vollständig ausgewachsen sind, so spricht auch dieser Umstand dafür, dass die Knospen nach einer Conjugation angelegt werden, ihre Bildung demnach auch wohl ursächlich mit dieser zusammenhängt. Man darf jedoch nicht vergessen, dass gerade bei der *Noctiluca miliaris* sich das Alter der Individuen nicht immer nach der Körpergrösse abschätzen lässt, weil die Thiere zu häufig einen Theil ihrer Membran [1]) abwerfen und durch Zusammenziehung des Plasmas ein geringeres Volumen annehmen. — Die Aneinanderheftung der beiden Paarlinge geschieht mittels einer klebrigen, structurlosen Gallerte, welche in dünner Schicht von dem über dem Centralplasma gelegenen Theile der Körperwandung ausgeschieden wird. Merkwürdiger Weise verschmelzen nun die Kerne nicht sofort mit einander, nachdem die zwischen ihnen liegenden Membranpartien resorbirt worden sind; sie fliehen einander vielmehr anfangs, sodass sie auf einem der ersten Stadien der Conjugation, wenn sich ein schmaler Verbindungscanal zwischen den Paarlingen entwickelt hat, räumlich näher beisammenliegen als etwas später. Während dann der bisquitförmige Einschnitt zwischen den Individuen immer flacher wird und diese mehr und mehr verwachsen, rücken die Kerne wieder auf einander zu und vereinigen sich schliesslich. Den Moment der Verschmelzung der Kerne habe ich einmal beobachtet. Eine Structurveränderung erleiden sie nicht hierbei, wohl aber vollführt der neugebildete Nucleus anfangs geringe amöboide Bewegungen. Die Bandgeisseln der Paarlinge verschwinden meist schon bei Beginn der Conjugation, und zwar werden sie entweder abgeworfen, in welchem Falle sie vorher zu einem runzeligen, welken Faden werden, oder sie werden allmählich eingezogen. Conjugationsthiere, welche man in der feuchten Kammer hält, ermatten oft so sehr, dass sie nicht mehr im

---

1) Diese Beobachtung kann man sehr leicht an Thieren anstellen, die auf dem Objectträger etwas beunruhigt worden sind; sie scheint mir zu beweisen, dass Bütschli (in: Morpholog. Jahrbuch, Bd. X, p. 564) nicht im Rechte ist, wenn er der Noctiluca jede cuticulare Membran abspricht.

Stande sind, die oft dicht genäherten Kerne zur Verschmelzung zu bringen; sie erhalten sich 3—4 Tage in diesem doppelkernigen Zustande am Leben und stülpen auch zuweilen während dieser Zeit aufs neue jedes eine Bandgeissel aus.

Die Bildung der Schwärmknospen soll nach Cienkowski dadurch eingeleitet werden, dass zwei Plasmahügel sich über das Niveau der Kugel erheben. Dieselben sollen sich darauf in 4 Hügel theilen, diese in 8 und so fort. Dass solche Stadien mit 2 und 4 Hügeln vorkommen, ist wohl gewiss, aber sicherlich treten sie nicht immer auf, denn vielfach fand ich nur eine dicke Plasmaschicht mit einigen wenigen Kernen, die wohl nach innen, aber nicht nach aussen vorsprang. — Robin verdanken wir Mittheilungen über die Veränderungen, welche der Kern bei seinen successiven Theilungen durchmacht; solche an das indirecte Schema erinnernde Umwandlungen treten aber nur während der ersten Theilungen auf; später zerfällt er, wie ich öfters beobachtet habe, durch einfache Durchschnürung. — Die Ausbildung der Cilien fällt nicht immer genau auf dasselbe Entwicklungsstadium; zuweilen erscheinen sie schon sehr früh, wenn die einzelnen Plasmaauswüchse noch eine Reihe von Theilungen durchzumachen haben. Dann ereignet es sich auch wohl, dass einzelne Knospen zwei Geisseln erhalten. Auch die Gestalt der Schwärmer ist manchen kleinen Schwankungen unterworfen, wie dies schon von Cienkowski bemerkt wurde. Besondere Beachtung verdient nur der Umstand, dass die Quer- und die Längsfurche nicht selten völlig fehlen, was gegen den von Bütschli und Pouchet gemachten Versuch, an den Schwärmern der Noctiluca einen dinoflagellatenartigen Bau nachzuweisen, sprechen würde. Dieselben stellen in diesem Falle eiförmige oder ovale Körperchen dar, die an der Befestigungsseite der Geissel etwas abgeflacht sind. Eine besondere Mundöffnung fehlt den Thierchen, was auf eine kurze Dauer dieses Entwicklungsstadiums hindeutet. — Das Schicksal der Noctiluken, welche die Hauptmasse ihres Körpers bei der Knospenbildung eingebüsst haben, ist zur Zeit noch unbekannt. Bei einigen Thieren, welche eine reife, schon mit Cilien versehene Schwärmerplatte hatten, konnte ich noch einzelne Kernbrocken durch Tinction nachweisen. Es ist daher nicht unmöglich, dass einige Individuen nach der Loslösung der Knospen noch weiterleben, zumal in dem dünnen Plasmanetz, welches stets zurückbleibt, ab und zu auch grössere Portionen angetroffen werden. Die von mir in der feuchten Kammer gehaltenen Noctiluken gingen stets zu Grunde, weil sie äusserst leicht collabiren.

Die Wirkung der verschiedenartigsten chemischen Körper und physikalischen Kräfte auf das Leuchtvermögen der Noctiluca ist schon von einer grossen Anzahl von Naturforschern untersucht worden. Sie kamen alle zu dem Resultat, dass sich das Leuchten durch jeden stärkeren Reiz, welcher Natur er auch sein mag, hervorrufen lässt, solange nur die Luft nicht abgeschlossen ist. Dieser letztere Umstand weist — da das Licht im Stickstoff erlischt — darauf hin, dass das Leuchten in die Categorie der Oxydationsprocesse gehört. Es hält nicht schwer, einige weitere Beobachtungen zu erbringen, welche für die Richtigkeit dieses Satzes sprechen: so tritt z. B. das Leuchten nur in dem peripheren Körperplasma auf, und ferner sind die in einem ruhig stehenden Gefässe am Boden sich ansammelnden Regenerationszustände der Noctiluca, welche ihre Leuchtkraft noch in vollem Maasse besitzen, viel schwerer zum Phosphoresciren zu bringen als die an der Oberfläche schwimmenden normalen Individuen, weil diese in höherem Maasse unter dem Einfluss der atmosphärischen Luft stehen. Man sollte nun erwarten, eine Sättigung des Wassers mit Sauerstoffgas würde die thierische Phosphorescenz in besonderer Intensität hervorrufen, was QUATREFAGES [1]) bestreitet. Ich habe daher diesen Versuch wiederholt, und es ist mir auch in einigen Fällen gelungen, durch ein mehrere Minuten andauerndes Einleiten von reinem Sauerstoff ein mattes Licht zu veranlassen, das nach der Gasentwicklung noch ca. 10 Minuten ununterbrochen sichtbar war. Dass der Versuch zuweilen fehlschlug, lag vermuthlich an den primitiven Verhältnissen unter denen ich zu arbeiten hatte. Legt man Noctiluken auf feuchtes Fliesspapier und betrachtet sie mit einer stärkeren Vergrösserung, so lässt sich das von ihnen ausstrahlende Licht in 4 Categorien gliedern:

1) blitzartiges, intensives Aufleuchten der gesammten äusseren Plasmaschicht mit gleich darauf folgender Dunkelheit;

2) ebenso, jedoch folgt ein 1—2 Minuten währendes schwaches Nachleuchten;

3) mattes Leuchten der äusseren Plasmazone oder einiger grösserer Partieen derselben und gleichzeitiges starkes Funkeln einzelner kleiner Punkte;

4) ein grösster Kreis der Kugeloberfläche ist ganz oder theilweise leuchtend, und zwar setzt sich derselbe aus vielen kleinen Punkten zusammen.

---

1) A. DE QUATREFAGES, Mémoire sur la phosphorescence du port de Boulogne etc., in: Comptes rendus T. 31, 1850, p. 618.

Berücksichtigt man die Resultate, zu denen **Radziszewski**[1]) gelangt ist, so wird es wahrscheinlich, dass das diffuse Licht der Körperoberfläche von den kleinsten Fetttröpfchen des engmaschigen Plasmanetzes, welches sich überall direct unter der Cuticula vorfindet, ausgeht, während das aus einzelnen Punkten bestehende Licht den gröberen Fetttröpfchen des peripheren Sarcodenetzes seinen Ursprung verdankt.

Die Frage, ob die Phosphorescenz der Noctiluca eine dem Willen des Thieres unterworfene Erscheinung ist oder nicht, ist bis jetzt wenig erörtert worden. Ich schliesse mich **Pouchet**[2]) an, welcher von dem Leuchten der Cilioflagellaten sagt: „c'est une simple propriété physicochimique qui paraît chez les êtres inférieurs indépendante des manifestations vitales réciproques des individus", und halte demgemäss das Leuchten der Noctiluca für einen unwillkürlichen Act, der durch einen äusseren Reiz bedingt wird, und dem sich das Thier nicht zu entziehen vermag. Beobachtet man nämlich lebensfrische Noctiluken, die sich an einem völlig ruhigen Orte befinden, so constatirt man ein vollständiges Schwinden des Lichtes. Dass Spuren desselben ab und zu wiederkehren, liegt wohl daran, dass sich die an der Oberfläche des Wassers in dichter Schicht ansammelnden Noctiluken theils gegenseitig beunruhigen, theils durch Entomostraken und andere kleine Thiere, deren Gegenwart sich nicht ausschliessen lässt, gereizt und dadurch zum Leuchten gebracht werden. Andererseits folgt die Erscheinung ausnahmslos und sofort jeder intensiven Reizung, wie der Donner dem Blitze.

Ob und inwiefern das wunderbare Phänomen, das seinen Ursprung dem Zusammenwirken von Tausenden und Abertausenden winziger Organismen verdankt — das Meerleuchten — von den jeweiligen Witterungsverhältnissen abhängt, ist meines Wissens noch wenig geprüft worden. Ich habe daher $1^1/_2$ Monate lang auf der Insel Borkum Wind und Wetter mit Rücksicht auf die grössere und geringere Intensität des Meerleuchtens controlirt und bin zu dem Resultat gekommen, dass nur der Wind und die Stärke des Wellenschlages einen nachweisbaren Einfluss auf das Zustandekommen jener schönen Erscheinung ausüben. Damit das Phänomen sich in seiner ganzen Pracht

---

1) **Br. Radziszewski**, Ueber die Phosphorescenz der organischen und organisirten Körper, in: **Liebig**'s Ann. d. Chemie, Bd. 203, 1880, p. 305.

2) G. **Pouchet**, Contribution à l'histoire des Cilioflagellés, in: Journ. Anat. Physiol., T. 19, 1883, p. 437.

zeige, muss der Wind einige Tage anhaltend von der offenen See auf die Küste zu geweht haben. Trifft dieser Umstand mit einer mässig bewegten Meeresoberfläche zusammen, so kann der Besucher unserer Nordseeküste, der sehr oft vergeblich Abends an den Strand zieht, mit Sicherheit auf den ersehnten Genuss rechnen. In Folge des Seewindes sammeln sich offenbar grosse Mengen von Noctiluken in unmittelbarer Nähe der Küste, während die Thiere durch Landwind wieder von derselben entfernt werden. Dass ein starker Wellenschlag das Schauspiel nicht zur vollen Schönheit heranreifen lässt, trotz der grösseren Reizung, welcher die Thiere dann ausgesetzt sind, erklärt sich leicht daraus, dass in diesem Falle die Noctiluken zu sehr unter die Oberfläche des Wassers gerissen werden, da ja jedes Wellentheilchen eine Curve beschreibt und um so tiefer herabsteigt, je höher die Welle war. Für die weit verbreitete Ansicht, dass das Phänomen besonders in gewitterschwülen Nächten sich zeige, habe ich keine Beweise gefunden. An mehreren Abenden war die Insel Borkum von allen Seiten von Gewittern umgeben, aber keine Spur von Meerleuchten war zu sehen, weil einige Zeit hindurch Landwind geherrscht hatte. Andererseits rief eine hohe electrische Spannung der Atmosphäre bei gleichzeitigem Seewind keine besondere Intensität der Erscheinung hervor. Diese Behauptung hat daher wohl nur deshalb Anklang gefunden, weil an Gewitterabenden die See sich zu beruhigen pflegt und dadurch das Zustandekommen des Meerleuchtens begünstigt.

VIII. Die Copulation und die Conjugation von *Paramaecium putrinum* Cl. et L.

Durch Engelmann[1]) sind wir mit der in theoretischer Hinsicht sehr wichtigen Thatsache bekannt gemacht worden, dass bei *Stylonychia mytilus, pustulata* und *histrio* zweierlei verschiedene Conjugationsprocesse vorkommen, welche er als Copulation und Conjugation s. str. unterscheidet. Die erstere besteht in einer totalen und dauernden Verschmelzung der beiden Paarlinge, wobei die zwei in jedem normalen Thiere vorhandenen Kerne, ohne weitere Structurveränderungen zu erleiden, sich vereinigen. Aus den vier ursprünglichen Nuclei werden demnach zwei. Diese verwachsen darauf mit einander, um nach einiger Zeit wieder in zwei gesonderte Körper zu zerfallen. Die Nebenkerne

---

1) l. c. p. 612 ff.

verhalten sich bei der Copulation ganz ähnlich wie die Hauptkerne. Auch sie verschmelzen mit einander. — Bei der eigentlichen Conjugation hingegen vereinigen sich beide Individuen nur mit ihrer vorderen Körperhälfte — zuweilen auch mit ihren Längsseiten — und bleiben für einige Zeit, etwa 24 Stunden, mit einander verbunden. Die Kerne und Nebenkerne durchlaufen während der Syzygie und nach Lösung derselben tiefgreifende, zu einer vollständigen Neubildung derselben führende Veränderungen, auf die ich hier nicht näher eingehen kann. — Conjugation und Copulation sind zwei in morphologischer Hinsicht vollkommen von einander verschiedene Processe, von denen man daher auch annehmen darf, dass sie physiologisch differenten Zwecken dienen, und zwar wird man wohl nicht irregehen, wenn man die Aufgabe der Copulation darin erblickt, zwei Thiere mit all' ihren individuellen Eigenthümlichkeiten zu einem einzigen Organismus zu vereinigen, während die Conjugation eine Regeneration, eine Verjüngung der Kerne herbeizuführen sucht.

Ein solcher Gegensatz zwischen einer Copulation und einer Conjugation findet sich nun auch bei *Paramaecium putrinum*. Ich beobachtete eine Conjugationsepidemie im Juli 1887 und fand unter den Thieren derselben einige Paare — im Ganzen c. 12—15 — deren Individuen auf eine ungewöhnliche Weise verbunden waren. Die Thiere lagen nicht mit ihrer einen Längsseite aneinandergepresst, sondern hatten sich nur mit der hinteren Leibeshälfte im stumpfen Winkel vereinigt (Taf. V Fig. 52). Als hintere Körperhälfte fasse ich hierbei diejenige auf, in deren Bereich die Mundöffnung fällt, weil die Paramaecien in der Regel mit dem entgegengesetzten Körperende voran umherschwimmen. Beide Copulirenden verschmelzen vollständig und kehren sich dabei die Bauchseiten mit den Mundöffnungen zu. Auf den gegenüberliegenden Rückenflächen sieht man ausserdem die vier contractilen Vacuolen der beiden Paarlinge sich abwechselnd zusammenziehen und wieder ausdehnen. Auf den jüngsten Stadien des ganzen Vorganges beträgt der von beiden Individuen gebildete Winkel ungefähr einen Rechten, und die Mundöffnungen liegen ziemlich weit von einander entfernt. Allmählich aber wird die Verschmelzung eine immer innigere, der Winkel stumpfer und stumpfer, bis schliesslich beide Paarlinge zu einem geradlinigen Organismus verwachsen sind, dessen zwei Vestibula dicht neben einander stehen (Fig. 53). Von gewöhnlichen Individuen sind derartige Thiere meist an ihrer etwas abweichenden Gestalt schon mit schwacher Vergrösserung zu unterscheiden. Sie pflegen in der Mitte des Bauches und des Rückens buckelartig aufgetrieben zu sein und zeichnen sich ausserdem durch besondere Grösse aus, da die Paarlinge nicht selten ausgewachsen sind. Leider sind die Copulationspaare sehr empfindlich, so dass ich sie nie länger als 24 Stunden in der feuchten Kammer am Leben erhalten konnte, ein Zeitraum, in dem die bis jetzt geschilderten Veränderungen durchlaufen wurden. Das weitere Schicksal der beiden Mundöffnungen und der pulsirenden Vacuolen bleibt aus diesem Grunde noch festzustellen; es schien mir, als ob erstere zu einer einzigen verwüchsen. — Die Kerne verhalten sich bei der Copulation sehr einfach; ohne sich irgendwie zu verändern, wandern sie einander entgegen und verschmelzen in der Mitte des gemeinschaftlichen Körpers oder in deren Nähe durch Nebeneinanderlagerung zu einem einzigen Gebilde. Auch die Nebenkerne rücken auf einander zu, doch ist es mir nicht gelungen, ihre Vereinigung zu constatiren; trotzdem kann dieselbe kaum zweifelhaft sein, denn ich habe beide Paranuclei in unveränderter Gestalt öfters unmittelbar bei einander liegend gefunden. — Die Copulation ist bei *Paramaecium putrinum* eine seltene Erscheinung und wohl nur aus diesem Grunde bis dahin übersehen worden. Die von mir beobachteten Paare befanden sich sämmtlich zwischen vielen Hunderten von Thieren, die mit wenigen Ausnahmen eine Conjugationsperiode eben durchlaufen hatten oder in den letzten Stadien derselben standen. Als die Epidemie fast vollständig erloschen war, habe ich auch vergebens nach Copulationspaaren gesucht. Dies scheint auf einen Zusammenhang beider Vorgänge hinzudeuten; doch können erst weitere Untersuchungen entscheiden, ob derselbe nicht bloss zufälliger Natur war und vielleicht bei anderen Epidemien fehlen wird.

Die Conjugation von *Paramaecium putrinum* stimmt in allen wesentlichen Zügen mit der von *Par. aurelia*[1]) überein, und da die zahlreichen Angaben, welche über den letzteren Vorgang von früheren Forschern gemacht worden sind, erst ganz kürzlich in vortrefflicher Weise durch Gruber[2]) zusammengestellt und erweitert worden sind, will ich mich hier auf die Besprechung einiger controverser und zweifelhafter Punkte beschränken.

---

1) Diese beiden Arten stehen sich überhaupt sehr nahe. Namentlich scheint das Fehlen resp. das Vorhandensein einer Trichocystenschicht keinen Speciesunterschied auszumachen, denn ich traf öfters — wie auch Bütschli — dieselbe bei *Par. putrinum* sehr deutlich ausgebildet, (Fig. 53).

2) A. Gruber, Der Conjugationsprocess bei Paramaecium Aurelia. in: Ber. Nat.-forsch. Ges., Freiburg i. Br., Bd. II.;

Zunächst sei hervorgehoben, dass eine Eigenthümlichkeit des Nebenkernes im normalen Zustande bis jetzt übersehen worden ist. Derselbe besitzt eine spindelförmige, ovale oder auch wohl runde Gestalt und im Verhältniss zum Kern ein viel geringeres Tinctionsvermögen, eine Eigenschaft, die seine Derivate auch während eines grossen Theiles der Conjugation charakterisirt. Ausserdem weist der Nebenkern constant einen lichten, körnchenfreien Pol auf, der stets vollständig ungefärbt bleibt (Fig. 54). Derselbe macht den Eindruck, als ob ihm die Nebenkernsubstanz völlig fehle, und er nur von einer wasserklaren Flüssigkeit erfüllt sei. Eine derartige lichte Stelle habe ich schon früher von den Paranuclei der *Spirochona gemmipara* beschrieben und sie auch bei einigen andern, nicht näher bestimmten Infusorien wieder gefunden. Ihr scheint daher eine weitere Verbreitung zuzukommen, wenn es auch sicher ist, dass sie manchen Arten fehlt. Die von Jickeli[1]) vertretene Ansicht, dass der Nebenkern mit dem Hauptkern bei den Infusorien irgenwie verbunden sei, trifft für *Par. putrinum* und *aurelia* nicht zu. Er liegt frei in einer Nische des Nucleus oder neben ihm.

Die conjugirenden Paramäcien vereinigen sich bekanntlich in schwach gekreuzter Stellung, und zwar so, dass die Verwachsungsstelle etwas vor die Mundöffnungen der Paarlinge fällt. Man erkennt diese Verhältnisse am besten an Thieren, die im Begriff sind, sich wieder zu trennen (Fig. 55). Beide Individuen der citirten Abbildung stehen durch einen kleinen Canal in offener Communication mit einander. Die Mundöffnungen liegen ein wenig hinter dieser Verbindungsbrücke, und zwar die eine unter, die andere über derselben. Beide Paarlinge kehren dem Beschauer daher auch nicht die gleiche Körperseite zu, sondern man erblickt die linke des einen und die rechte des andern. Es ist ein genaues Verständniss dieser Verhältnisse — die auch während der eigentlichen Syzygie die gleichen sind, nur dass dann die Thiere dichter aneinandergepresst sind — wesentlich, weil sich eine wichtige Phase der Conjugation an der Verwachsungsstelle abspielt. Ich meine das Stadium der gekreuzt über einander liegenden Nebenkernspindeln, das so manchen der früheren Beobachter zu der irrigen Vorstellung[2]) eines gegenseitigen Austausches derselben ver-

---

1) C. Jickeli, Ueber die Kernverhältnisse der Infusorien, in: Zoolog. Anzeiger, 1884.

2) Sie wird neuerdings noch von E. Maupas (in: Comptes rendus Ac. Sc. Paris 1886, No. 26, Juni, p. 1569—73) aufrecht erhalten; doch

leitet hat. Wie schon aus der citirten Abhandlung **Gruber**'s hervorgeht, weiche ich von diesem Forscher nur in einem kleinen Punkte ab. Während er angiebt, dass die Nebenkernspindeln unter Annahme einer petschaftförmigen Gestalt mit einander vorübergehend verschmelzen, habe ich verschiedene Male beobachtet, dass dieselben, ohne ihre Form zu ändern, auf einander zurückten, sich kreuzten und nach einigen Stunden wieder auseinandergingen. Als ich jene Untersuchungen an *Param. aurelia* anstellte, glaubte ich auch noch an einen Austausch der Spindeln und achtete, um diese Frage zu entscheiden, vornehmlich auf die Gestalt der gekreuzten Samenkapseln. Es kommt nun nicht selten vor, dass dieselben leicht von einander zu unterscheiden sind, indem die eine etwas breiter oder in anderer Weise zugespitzt ist als die zweite (Fig. 56). Diese Unterschiede liessen sich nun auch noch deutlich nachweisen, als die Spindeln sich wieder von einander entfernt hatten, ein Umstand, der sich schwer mit der **Gruber**'schen Ansicht vereinigen lässt. Kann man doch kaum annehmen, dass an Spindeln, die einmal petschaftförmig geworden sind, später wieder dieselben kleinen individuellen Eigenthümlichkeiten der Gestalt auftreten, die ursprünglich vorhanden waren. Ohne übrigens deshalb **Gruber**'s Beobachtungen für unrichtig erklären zu wollen, glaube ich doch, dass eine solche Verschmelzung der Samenkapseln nicht in allen Fällen eintritt. Bei der Untersuchung meiner Präparate von *Par. putrinum* bin ich zu denselben Resultaten gelangt. Auch hier fand ich die Spindeln nur über einander liegend, nicht verwachsen.

An die soeben besprochene Phase des Conjugationsprocesses knüpft sich noch eine zweite Frage, die zur Zeit noch einer sicheren Beantwortung harrt. **Engelmann** hat jenen Vorgang bei *Param. aurelia* zu einer Zeit beobachtet, wo jeder Paarling nur eine Spindel besass. **Gruber** findet in seltenen Fällen wohl auch Thiere, „bei welchen zwei lange, halbmondförmig gekrümmte, überaus umfangreiche Spindeln über einander gelagert waren, und sonst in keinem der Thiere ein Nebenkern sichtbar war.“ In der Regel soll die Annäherung aber auf dem Zweispindel-Stadium erfolgen. Ich traf sie bei *Par. putrinum* ungefähr gleich häufig bei Anwesenheit von 1, 2 oder 4 normal gebauten Spindeln in jedem Thier an. Besass jeder Paarling 2 Samen-

---

gehe ich hier nicht auf dieselbe ein, weil die interessanten, aber vielfach von den bisherigen Anschauungen abweichenden Angaben des französischen Forschers noch nicht in ausführlicher Mittheilung vorliegen.

kapseln, so lagen die zwei freien zuweilen unmittelbar neben den gekreuzten, als ob sie die Thätigkeit derselben zu unterstützen suchten. Zukünftige Untersuchungen werden nun zu entscheiden haben, wie die angegebenen Beobachtungen zu erklären sind; ob das Stadium der Spindelkreuzung nur einmal in jeder Syzygie — und zwar bald vor, bald nach der ersten oder zweiten Theilung der Spindeln — auftritt, oder ob sich dieser Vorgang mehrere Male wiederholt. Eine genaue Aufklärung dieser Verhältnisse würde auch Licht auf die Bedeutung der Spindelkreuzung werfen. Bei mehrfacher Wiederkehr dieses Stadiums wird es — vorausgesetzt, dass dasselbe stets sich gleich bleibt — unmöglich einen Substanzaustausch zwischen beiden Spindeln im Sinne Gruber's anzunehmen, da für die Erreichung dieses Zweckes eine einmalige innige Berührung genügen würde. Gehen doch alle 8 (resp. 16) Spindeln der beiden Paarlinge aus den zwei primären Samenkapseln hervor, die schon einmal in Wechselwirkung zu einander getreten sind. In diesem Falle würde man den Nebenkernspindeln die Beeinflussung und Förderung eines energischen Plasmaaustausches zwischen beiden Conjugirenden zuzuschreiben haben, eine Ansicht, die sich schon jetzt durch eine Thatsache stützen lässt: das Plasma nimmt in der Umgebung der Vestibula eine ganz veränderte Beschaffenheit an (Fig. 56). Es bildet einen lichten körnerfreien Hof um jede Spindel, wodurch man bei einiger Uebung in den Stand gesetzt wird, schon bei schwacher Vergrösserung die auf diesem Stadium befindlichen Paare zu erkennen. Diese hellen Plasmapartien verschwinden wieder, wenn die Spindeln auseinandergerückt sind, ein Beweis, dass letztere in der That das Cytoplasma irgendwie beeinflussen.

Von den durch Bütschli, Gruber und Balbiani vertretenen Ansichten über die nach Lösung der Syzygie erfolgenden Umwandlungen des Nebenkernes weiche ich in einem wichtigen Punkte ab: der neue Paranucleus entsteht nach meinen Beobachtungen aus einem der Bruchstücke des Hauptkernes und ist kein Derivat des ursprünglichen Nebenkernes. Ohne Zweifel kommt es manchmal in den Einzelthieren zur Bildung von 8 Nebenkernspindeln, von denen also möglicher Weise 4 zum neuen Hauptkern, die übrigen alle oder theilweise zum Nebenkern werden könnten. Ich glaube jedoch, dass in diesem Falle das betreffende Infusor sich theilt, und somit jedes Tochterthier 4 Spindeln erhält, die zu den bekannten grossen, lichten, und mit einem deutlichen Nucleolus versehenen „Keimkugeln“[1]) werden. Färbt man nämlich mit Picrocarmin, zieht gehörig aus, sodass das Zellplasma ganz ungefärbt erscheint, und untersucht darauf in Wasser oder noch besser in Glycerin (nicht Canadabalsam oder Damarharz!), so unterscheiden sich die Nebenkernderivate während der ersten Tage nach Lösung der Syzygie auffallend von den Hauptkernbruchstücken: während diese sich intensiv tingiren, nehmen jene den Farbstoff gar nicht oder fast gar nicht auf. Viele hundert Präparate, die ich durchmusterte, zeigten nun stets neben zahlreichen Zerfallproducten des alten Kernes ausschliesslich 4 ungefärbte Keimkugeln, aber nie irgend welche Gebilde, die durch Färbung oder Structur sich von jenen zwei Gruppen von Körpern unterschieden, also eventuell ebenfalls Nebenkernderivate sein konnten. Auf diesem Stadium ist daher, wie ich überzeugt bin, der neue Nebenkern noch nicht in irgend welcher Form angelegt. — Jene 4 lichten Körper, die Eiern in der That so täuschend ähnlich sehen, dass man **Balbiani**'s frühere Deutung wohl verzeihlich finden muss, wachsen nun zum Hauptkern heran, und zwar bald alle vier, bald nur zwei derselben, in welchem Falle die zwei anderen durch Theilung einem anderen Individuum zugeführt werden. Zuweilen trifft man sogar in Folge einer nochmaligen Theilung nur eine Keimkugel an. — Hinsichtlich der feineren Structur der Keimkugeln gehen die Angaben der verschiedenen Forscher ziemlich auseinander. **Kölliker**[1]) und **Balbiani** finden in denselben einen centralen Körper, der nach ersterem bald homogen, bald mit einem Hohlraum versehen sein soll. **Bütschli**[2]) hält dies Gebilde für eine einfache Vacuole, und **Gruber** hebt nur die granulirte Beschaffenheit der lichten Körper hervor. Ich bin sicher, dass die beiden erstgenannten Forscher der Wahrheit näher gekommen sind als die beiden letzteren. Jene vier Gebilde besitzen nämlich in der That einen nach Abtödtung mit Osmiumsäure sehr deutlichen centralen Kern von dichtem, homogenem Bau und schwach ölartigem Glanz (Fig. 65). Derselbe wird 1— 3 μ gross und ist rund oder auch wohl länglich. In Canadabalsam wird er unsichtbar. Er wird umgeben von einer schmalen Zone sehr lichten und körnchenfreien Plasmas, auf die nach aussen die Hauptmasse der Keimkugel folgt. Sie macht ebenfalls einen homogenen, hellen Eindruck, ist aber immer von mehr oder minder zahlreichen Körnchen

---

[1]) Ich behalte diesen Ausdruck bei, natürlich nicht im Sinne der

---

Stein'schen Embryonentheorie, sondern weil diese Kugeln die Keime des späteren Kernes sind.

1) Icones histiologicae, 1864, Heft I.

2) **Bütschli**, l. c. p. 92.

durchsetzt. Nach aussen liegt ihr eine Membran auf, die sich häufig abhebt und dann sehr in die Augen fällt. Die ganze Keimkugel bleibt bei der angegebenen Behandlungsweise farblos, weil eben von Anfang an der Nebenkern sehr arm an Chromatin ist. Sie entwickelt sich in der Weise aus einer längsstreifigen Spindel, dass ihre Substanz dicht und homogen wird und zahlreiche, ziemlich grobe Körnchen abscheidet (Fig. 57). Diese scheinen später zu zerfallen und sich über die ganze Grundmasse zu vertheilen; gleichzeitig wird das Gebilde rundlich. Wie sich auf diesem Stadium das centrale Korn anlegt, ist mir unklar geblieben. — Dasselbe bleibt häufig bis fast zum Schluss der Kernregeneration erhalten und liefert dann den sichersten Beweis für die Entstehung des neuen Nucleus aus jenen lichten Keimkugeln (Fig. 58, 59). Sobald diese letzteren vollständig ausgebildet sind, fangen die Bruchstücke des alten Kernes an, eine eigenartige Veränderung zu erleiden. Sie verlieren ihr Chromatin, und zwar zunächst nur auf einer kleinen, meist im Centrum gelegenen Stelle, die gleichzeitig etwas grobkörniger wird. Ist dieser Process weiter fortgeschritten, so erhalten die Trümmer des alten Kernes ein sehr charakteristisches Aussehen, das auch schon BÜTSCHLI[1]) aufgefallen ist (Fig. 60): inmitten eines stark tingirten Ringes liegt eine helle, körnige und ungefärbte Substanz, die von der Aussenzone nicht selten auch besonders abgesetzt erscheint (Fig. 61). Bei anderen Thieren verschwindet das Chromatin zuerst an irgend einer peripherischen Stelle (Fig. 62). In allen Fällen werden die Bruchstücke des alten Kernes auf diese Weise zu untingirten, dichtkörnigen Körpern, die sich anfangs noch vom umgebenden Plasma unterscheiden lassen, schliesslich aber ganz in dieses übergehen. In demselben Maasse nun, in dem das Chromatin die Trümmer des alten Kernes verlässt, fangen die Keimkugeln an, sich mehr und mehr zu färben, während sie gleichzeitig auch an Grösse zunehmen und körniger werden. Das Chromatin der Bruchstücke wird daher sehr wahrscheinlich im Cytoplasma gelöst und wandert in dieser für Farbstoffe nicht mehr besonders empfindlichen Form in die Keimkugeln über. Dabei kommt es häufig vor, dass die Grundsubstanz der letzteren sich schon gut tingirt hat, während das centrale Korn noch ganz ungefärbt hindurchschimmert.

Die Neubildung des Hauptkernes kann nun in verschiedener Weise erfolgen:

1) In der Regel verschwinden die Bruchstücke des alten Kernes

---

[1]) BÜTSCHLI, l. c. Taf. VIII, Fig. 21—23.

in der geschilderten Art bis auf einige wenige (2—10). Von diesen geht eins noch eines Theiles seines Chromatins verlustig, erhält einen hellen Pol und wird so zum Nebenkern. Alle übrigen verschmelzen mit den Körpern, welche aus den Keimkugeln hervorgegangen sind, und deren Anzahl je nach den eingetretenen Theilungen 4, 2 oder 1 beträgt (Fig. 63).

2) Nur wenige Bruchstücke des alten Kernes wandeln sich in Cytoplasma um; die meisten bleiben erhalten und verschmelzen unverändert mit den lichten Körpern zum neuen Hauptkern. Diesen Modus habe ich nur einige wenige Male nachweisen können (Fig. 64).

3) Es verschwinden alle Bruchstücke bis auf einen, der zum Nebenkern wird. Der neue Nucleus entsteht ausschliesslich aus der Verwachsung der Keimkugeln (Fig. 59). Da in diesem Falle manchmal auch der Paranucleus vor der Neubildung des Hauptkernes noch nicht vorhanden ist, so kann er dann nur durch Ablösung vom neuen Nucleus entstehen (Fig. 58).

Wie man sieht, erfolgt die Neubildung des Hauptkernes im Principe stets gleich, nur die Anzahl der hierbei benutzten Bruchstücke des alten Kernes unterliegt erheblichen Schwankungen.

IX. Schlussbetrachtungen über das Wesen der Copulation und der Conjugation.

Aus den in der vorstehenden Abhandlung mitgetheilten Beobachtungen lassen sich, bei möglichster Berücksichtigung aller übrigen bis jetzt über die Conjugation gesammelten Erfahrungen, einige theoretische Schlüsse ziehen, die im Folgenden besprochen werden sollen. Ich gebe ihnen die Gestalt von Thesen, um sie in eine präcise Form zu kleiden.

I. Die bisher unter dem allgemeinen Namen der Conjugation bei den Protozoen bekannten Verschmelzungsprocesse zweier Individuen zerfallen in zwei scharf zu sondernde Vorgänge:

1) in die der Copulation, bei welcher die Zellkörper und die Kerne der beiden Paarlinge dauernd zu einem einzigen Organismus verwachsen, ohne dass ein Zerfall und eine Regeneration der Nuclei hierbei stattfindet. Sind Nebenkerne vorhanden, so vereinigen sich diese ebenfalls, ohne bemerkenswerthe Structurveränderungen zu durchlaufen.

2) in die der Conjugation s. str., bei welcher die Zellkörper der Paarlinge vorübergehend oder dauernd mit einander verschmelzen, während die Kerne in allen Fällen eine mehr oder minder complicirte Regeneration erfahren [1]).

Der wesentliche Inhalt dieser These ist früher schon von ENGELMANN hervorgehoben worden. Jedoch hat sich dieser Forscher damit begnügt, auf das Vorkommen von zweierlei verschiedenen Conjugationsprocessen bei den Stylonychien hinzuweisen, ohne dieser Thatsache eine allgemeinere Verbreitung und eine tiefere Bedeutung zuzuerkennen. Ich glaube, dass wir gegenwärtig schon diesen weiteren Schritt thun dürfen, weil wir einmal Copulation und Conjugation neben einander noch bei einer zweiten, der eben genannten ziemlich fernstehenden Infusorienform kennen gelernt haben — was mit einiger Wahrscheinlichkeit für eine weitere Verbreitung der Copulation bei den Ciliaten spricht — und weil wir zweitens über die grossen morphologischen Verschiedenheiten der beiden Vorgänge augenblicklich viel besser unterrichtet sind, als es zur Zeit des Erscheinens der wichtigen ENGELMANN'schen Untersuchungen der Fall war. Die Ausdrücke Copulation und Conjugation findet man nicht selten in der Protozoenliteratur mit dem Unterschiede gebraucht, dass mit ersterer die dauernde, mit letzterer die vorübergehende Verschmelzung zweier Individuen bezeichnet wird, gleichviel wie die Kerne sich hierbei verhalten. In diesem Sinne lässt sich aber unzweifelhaft eine scharfe Sonderung zwischen Copulation und Conjugation nicht vornehmen, da eine echte Kernregeneration sowohl im Zusammenhang mit einer dauernden Vereinigung (Vorticellinen) als einer vorübergehenden (die übrigen Ciliaten) angetroffen wird. Maassgebend für die Unterscheidung zweier Gruppen von Verschmelzungsprocessen der Protozoen kann daher nur das Verhalten der Kerne sein. Sobald die Nuclei der Paarlinge und, wenn sie vorhanden sind, auch die Nebenkerne einfach mit einander verwachsen, ohne dass erstere vorher zerfallen oder sich bemerkenswerth verändern, werden wir von Copulation reden. Läuft der ganze Vorgang dagegen darauf hinaus, den Kern zu regeneriren, d. h. ihn gänzlich oder theilweise aus neuen Elementen aufzubauen, so haben wir es mit einer Conjugation zu thun.

---

1) Aus practischen Gründen rede ich auch dann noch von einer Conjugation, wenn die Schlussstadien dieser Regeneration an Einzelthieren, also nach Aufhebung der Syzygie, sich abspielen.

Dass die beiden in Rede stehenden Processe in der That streng zu sondern sind, und dass man ihnen eine verschiedene physiologische Bedeutung zuschreiben muss, geht meines Erachtens aus ihrem gleichzeitigen Vorkommen bei denselben Species hervor. Möglich wäre ja es auch, dass die Conjugation und die Copulation nur verschieden hoch entwickelte Stadien eines und desselben Vorganges seien; aber dann dürften sie nicht beide bei derselben Art anzutreffen sein und vor allem nicht in einer so total verschiedenen morphologischen Ausbildung. Allein das Verhalten der Nebenkerne, die in einem Falle ebenso wie die Hauptkerne sich vereinigen, im anderen dagegen auf complicirte Weise zum neuen Hauptkern heranwachsen, weist klar darauf hin, dass beide Vorgänge verschiedener Natur sind. Ist diese Anschauung richtig, so braucht die Conjugation eine Copulation nicht auszuschliessen, und in der That stammten die von mir beobachteten Copulationsfälle sämmtlich aus kleinen Uhrschälchen, in denen eine intensive Conjugationsepidemie geherrscht hatte und noch herrschte. Ausserdem berichtet Engelmann: „einmal wurde Copulation von zwei mit grosser Placenta versehenen" — d. h. also noch in Conjugation stehenden — „Exemplaren von *Stylonychia pustulata* beobachtet. Im Laufe einiger Stunden waren die Leiber beinahe und die Placenten vollständig ohne sonstige Veränderung zu einem einzigen Körper verschmolzen." Hierin liegt ein directer Beweis, dass die Conjugation und die Copulation verschiedene Aufgaben zu erfüllen haben. Wie könnten sonst zwei noch in jenem Processe stehende Individuen schon in diesen eintreten!

Auch die verschiedene Verbreitung der uns hier interessirenden Verschmelzungserscheinungen spricht für eine verschiedene Natur derselben. Die Copulation ist weit verbreitet und bei den verschiedensten Abtheilungen der Protozoen nachgewiesen. Sie kehrt in der gleichen Form auch bei unendlich vielen niederen Pflanzen wieder. Wahre Conjugationsprocesse sind dagegen mit Sicherheit nur von den Infusorien, den Ciliaten und den Suctorien, bekannt. Diese nehmen offenbar eine Stufe hoher Differenzirung unter den Protozoen ein, und es ist daher wohl denkbar, dass sie im Zusammenhang mit dieser eigenartige Verjüngungsvorgänge erworben haben, für die es bei den übrigen Abtheilungen nichts Homologes giebt.

II. **Die Conjugation ist bei den Individuen einer und derselben Infusorienspecies mehr oder minder erheblichen Schwankungen unterworfen, ein Umstand, der auf ein verschieden intensives Regenerationsbedürfniss der betreffenden Thiere hinweist.**

Die Richtigkeit dieses Satzes wird von keinem aufmerksamen Beobachter einer Conjugationsepidemie bezweifelt werden. Zunächst ist schon die Zahl der conjugirenden Individuen eine nicht ganz constante. Während als Regel nur 2 Thiere sich mit einander verbinden, kommt es auch vor, dass 3 oder sogar 4 derselben sich vereinigen. Jickeli hat zuerst 3 Paramäcien verschmolzen gesehen, und seine Angaben werden von Gruber bestätigt. Ich selbst habe solche Drillinge gar nicht so selten angetroffen, doch ist es mir leider nicht geglückt, über den weiteren Verlauf des Vorganges in diesem Falle etwas zu ermitteln. Zuweilen waren zwei Individuen in normaler Weise verbunden, und das dritte hatte sich dem hinteren Körperende eines derselben angefügt. In anderen Fällen waren alle 3 Thiere zu einander gleich angeordnet. Bei der *Asellicola digitata* kommen, wie oben angegeben wurde, Drillinge ebenfalls dann und wann vor. Bei *Paramaecium putrinum* fand ich einmal 2 normale Paare mit ihren vorderen Körperenden zusammenhängend, so dass also in diesem Falle 4 Individuen conjugirten. Bei *Lagenophrys aselli* und anderen Vorticellinen ist es ebenfalls sicher constatirt, dass bald eine Microgonidie, bald deren zwei mit einem grossen Paarling verschmelzen.

Als ein weiterer Umstand, der den Verlauf der Conjugation bei den einzelnen Individuen variirt, ist die ungleich rasche Aufeinanderfolge der Theilungen anzusehen. Erst neuerdings hat Maupas (1) in einem interessanten kleinen Aufsatze gezeigt, wie sehr die Theilungsfähigkeit der Infusorien von den jeweiligen Ernährungs- und Temperaturverhältnissen abhängig ist. Dies gilt in gleicher Weise für die normalen, wie für die in Conjugation stehenden Infusorien. Gruber hebt hervor, dass je nach der Anzahl der vollzogenen Theilungen der neue Kern bei *Par. aurelia* aus 4, aus 2 oder aus einer Spindel aufgebaut wird; dasselbe habe ich bei *Par. putrinum* beobachtet und Aehnliches für manche andere Infusorien in der Literatur angegeben gefunden.

Wichtiger als die besprochenen Differenzen im Verlaufe der Conjugation scheinen mir die folgenden zu sein, die sich vornehmlich an den Paramäcien deutlich übersehen lassen. Bei denselben zerfällt bekanntlich der Hauptkern in eine Anzahl runder Stücke, deren Be-

---

1) in: Comptes rend. Ac. Sc. Paris, T. 104, 1886, No. 14, p. 1006 bis 1008.

stimmung es ist, ihr Chromatin an das Cytoplasma abzugeben und sich dann selbst in dieses zurückzuverwandeln. Offenbar vermag der alte Kern das Leben der Zelle nicht mehr in der richtigen Weise zu fördern, das harmonische Verhältniss zwischen ihm und dem Cytoplasma ist gestört, seine Substanz, wie man wohl geradezu sagen kann, ganz oder theilweise verbraucht. Zweck der Conjugation ist es nun, dies Missverhältniss zwischen Nucleus und Cytoplasma wieder aufzuheben und der Zelle wieder zu einem neuen lebenskräftigen Kern zu verhelfen. Die Paramäcien bedienen sich hierbei der Nebenkerne, indem in diese das Chromatin in demselben Maasse abgelagert wird, wie es aus den Bruchstückchen des alten Kernes schwindet. Die individuellen Variationen, auf die es uns hier ankommt, äussern sich nun darin, dass bei manchen Thieren die Bruchstücke des alten Kernes sämmtlich sich in Cytoplasma zurückverwandeln, während bei anderen ein mehr oder minder beträchtlicher Theil derselben erhalten bleibt und direct mit den Keimkörpern zum neuen Kern verwächst. Ich schliesse hieraus, dass die Regenerationsbedürftigkeit in den einzelnen Individuen verschieden gross ist; dass im ersteren Falle das gesammte Nucleoplasma eine innige Durchmischung mit dem Cytoplasma nöthig hat, während im letzteren ein Theil des Kernes noch brauchbar ist. Bei *Lagenophrys aselli* und *Epistylis simulans* liegen die Verhältnisse ebenso wie bei *Paramaecium*, und sie werden sich ohne Zweifel noch für viele andere Infusorien nachweisen lassen.

III. Die Conjugation verläuft bei den verschiedenen Infusorienarten in mehr oder minder complicirter Weise. Man kann daher annehmen, dass sie keine fest normirten Processe umfasst, sondern solche, die in einer langsamen Weiterentwicklung begriffen sind. Das Ziel dieser Entwicklungsrichtung scheint die Herbeiführung eines der Befruchtung ähnlichen Vorganges zu sein. Trotzdem ist nur die Copulation als ein der Befruchtung des Metazoeneies homologer Act zu bezeichnen. Die Conjugation ist hiervon morphologisch und physiologisch so verschieden, dass sie höchstens als eine Vorstufe der Sexualität angesehen werden darf.

Die Art und Weise, in der sich der Conjugationsprocess bei den verschiedenen Infusorienspecies abspielt, ist eine so mannigfache und wechselvolle, dass die Frage wohl berechtigt ist: welche Stellung nehmen die einzelnen Modi zu einander ein? Erreicht hier die Natur auf verschiedenen Wegen dasselbe Ziel oder verfolgt sie, im Grunde genommen, nur eine Bahn, deren einzelne Etappen dem mehr oder minder complicirten Verlaufe der Conjugation bei den verschiedenen Arten entsprechen? Ich glaube, nur die letztere Anschauung lässt sich aufrecht erhalten, denn bei aller Verschiedenartigkeit im Einzelnen geht doch durch alle hierher gehörigen Erscheinungen ein gemeinsamer Zug: die Bildung eines Kernes aus Elementen, die eben erst unter dem Einflusse des Zellplasmas herangewachsen sind. Die Mannigfaltigkeit der Conjugationsprocesse kann demnach nur eine Folge ihrer ungleichen Differenzirung sein, und es verlohnt sich wohl der Mühe, diese näher ins Auge zu fassen.

Für den einfachsten Modus einer Conjugation halte ich den des *Dendrocometes paradoxus*. Hier vereinigen sich zwei einander völlig gleiche Thiere vorübergehend durch einen kurzen Canal und tauschen vermittelst desselben Theile ihres Cytoplasmas gegenseitig aus. Gleichzeitig wächst der Kern — Nebenkerne sind nicht vorhanden — zu einem langen Bande aus und zerfällt, nachdem der Verbindungsarm der Paarlinge wieder eingezogen worden ist. Auf späteren Stadien findet man in jedem Thiere eine besondere Kugel, die entweder ganz allein oder unter gleichzeitiger Verschmelzung mit einem Theil der Kernbruchstücke — dieser Punkt bedarf noch weiterer Aufklärung — zum neuen Nucleus heranwächst. Zwei Erscheinungen sind für diese Conjugation bezeichnend: 1) der wechselseitige Austausch von Cytoplasma zwischen den Conjugirenden und 2) die Auflösung des ganzen Kernes oder wenigstens eines Theiles desselben im Zellplasma. Der Zerfall des Kernes in einzelne Stücke ist nicht von wesentlicher Bedeutung, denn mir sind auch Fälle vorgekommen, wo sich derselbe in toto auflöste. Berücksichtigen wir nun, dass die Conjugation beim *Dendrocometes* einfacher sich gestaltet als bei irgend einer anderen daraufhin untersuchten Infusorienart, so werden wir nicht anstehen, jene beiden charakteristischen Merkmale als die Fundamentalerscheinungen der Conjugation überhaupt anzusehen. Mir ist auch aus der Literatur kein Fall bekannt, wo einer dieser beiden Processe mit Sicherheit ausgeschlossen wäre ¹), dagegen haben sie sich bei vielen

---

1) Für *Param. bursaria* giebt Bütschli (l. c. p. 78) an, dass sich der Nucleus während der Conjugation nicht verändert; nur soll seine Structur gleichmässig feinkörnig werden. Ich vermuthe, dass ausserdem die Tinctionsfähigkeit geringer werden wird, indem das Chromatin theilweise in Lösung geht; dieser Punkt bedarf einer erneuten Untersuchung.

genauer untersuchten Conjugationen nachweisen lassen. Gruber hält es für fraglich, ob beim *Dendrocometes* „nicht doch kleinste Bestandtheile von Kernsubstanz mit ausgetauscht werden könnten". Soweit es sich hierbei um geformte Theile des Kernes handelt, muss ich diese Frage verneinen, denn der Kernzerfall tritt erst nach Aufhebung des Verbindungscanales ein. Anders aber liegt die Sache rücksichtlich der Elemente, die sich im Plasma lösen, also vornehmlich des Chromatins, das aus dem Kernfaden langsam verschwindet. Doch entzieht sich das Schicksal dieser Bestandtheile der Beobachtung, und es ist daher nutzlos, dasselbe zu discutiren.

Bei der im zweiten Capitel beschriebenen *Asellicola digitata* begegnen wir einer Conjugationsform, die sich als die zweite Stufe in der Entwicklungsreihe dieser Processe ansehen lässt. Die zwei für *Dendrocometes* charakteristischen Stadien des Plasmaaustausches und der Auflösung von Theilen des alten Kernes kehren hier in derselben Weise wieder. Zwischen sie aber fällt jene merkwürdige Periode, in der die Nuclei der beiden Paarlinge in der Mitte des Verbindungscanales, ohne ihre Structur zu verändern, dicht neben einander liegen und sich einen möglichst grossen Theil ihrer Oberfläche zukehren. Welche Bedeutung diesem Vorgange zukommt, ist sehr schwer zu sagen. Am nächstliegenden erscheint die Annahme, dass beide Kerne einen Theil ihrer Substanz austauschen, ähnlich wie es das sie umgebende Cytoplasma thut, dass wir es also hier mit einer Art Befruchtung zu thun haben. Aber hiergegen sprechen zwei gewichtige Bedenken: 1) ist von einem solchen Austausch nichts zu sehen, und da die Kerne ihre Structur nicht ändern, wird die Existenz desselben sehr problematisch; und 2) wird es schwer verständlich, warum die Nuclei nach einer solchen Periode gegenseitiger Befruchtung noch einen Zerfall und eine echte Regeneration durchzumachen haben. Dass die letzteren Vorgänge trotz jenes befruchtungsähnlichen Stadiums nöthig sind, beweist eben, dass dieses nicht so ohne Weiteres für identisch mit dem Copulationsacte der Protozoen oder der Befruchtung eines Metazoeneies durch einen Samenfaden erklärt werden kann. Vielleicht ist daher die Bedeutung desselben in einer ganz anderen Richtung zu suchen: die beiden Kerne rücken in die Mitte des Verbindungscanales, um den

---

Nach einer jüngst erschienenen Mittheilung Gruber's (Sexuelle Fortpflanzung und Conjugation, in: „Humboldt", Januar 1888) bleibt der Hauptkern hier in der That ganz erhalten; seine Regeneration findet aber dadurch statt, dass ein Theil der Paranucleusderivate mit ihm verschmilzt.

hier stattfindenden Plasmaaustausch durch ihre unmittelbare Nähe energischer zu gestalten. Einem solchen Erklärungsversuche liegt die Anschauung zu Grunde, dass der Kern in vielen Fällen die ihn umgebenden Plasmamassen nur auf eine bestimmte Entfernung hin direct beeinflussen kann, jenseits derselben aber nicht mehr oder nur in schwachem Maasse zu wirken vermag. Daher haben langgestreckte Protozoen fast immer einen ebenso geformten Nucleus, in welchem Falle man annehmen kann, jedes Kerntheilchen vermöge nur auf die ihm zunächst liegenden Plasmaportionen bestimmend einzuwirken. Bei anderen Protozoen wird aus demselben Grunde der Nucleus in viele Stücke zerfällt, das Thier also vielkernig

Für die beiden geschilderten Differenzirungsstufen der Conjugation weiss ich keine anderen Vertreter als die beiden genannten Acineten anzuführen, obwohl sicherlich der Vorgang bei anderen nebenkernlosen Formen ebenso oder ganz ähnlich verlaufen wird. Die grosse Menge der bis jetzt bekannten Conjugationsfälle vertheilt sich daher auf die folgenden Gruppen.

Als dritte Stufe derselben möchte ich jene Processe ansehen, in denen bei vorübergehender Verschmelzung ein besonderer Nebenkern schon von vornherein vorhanden ist, mit der Bestimmung, während der Conjugation zum neuen Nucleus heranzuwachsen. Der Paranucleus ist also offenbar, wie dies zuerst Bütschli in seiner grundlegenden Arbeit gezeigt hat, ein Ersatz- oder Reservegebilde, das nur mit Rücksicht auf die Conjugation entstanden ist. Er stellt die Kernanlage für die nächste Lebensperiode des betreffenden Infusors dar, während bei den nebenkernlosen Formen die Anlage des neuen Kernes erst dann sichtbar wird, wenn der alte in Stücke zerfallen ist. In manchen Fällen lässt sich nachweisen, dass einige von diesen Bruchstücken zum neuen Nucleus heranwachsen. Diese würde also den Nebenkernen entsprechen. Eins steht jedenfalls fest, dass der Verlauf der Conjugation bei nebenkernlosen Arten und solchen mit Paranucleus nicht wesentlich verschieden ist. Das bestuntersuchte Beispiel für die letzteren bieten die Paramäcien. Das bis jetzt nur von diesen bekannte Stadium der gekreuzt über einander liegenden Nebenkernspindeln entspricht offenbar dem Vorgange, der sich zwischen den Kernen der Asellicolen im Verbindungscanale abspielt. Die Schwierigkeiten, welche sich der Deutung desselben entgegenstellen, sind ähnlicher Art wie bei *Asellicola.* Doch will ich hier auf dieselben nicht eingehen, weil sie schon im vorigen Capitel besprochen worden sind. Weitere Untersuchungen müssen ferner entscheiden, ob die Nebenkerne bei allen Infusorien eine solche Periode gegenseitiger Annäherung durchmachen, oder ob dieselbe auch fehlen kann.

Bei den bis jetzt betrachteten Conjugationen waren die sich vereinigenden Individuen stets gleich gross und verschmolzen nur vorübergehend mit einander. Es fragt sich nun, welche Stellung wir der Conjugation der Vorticellinen einräumen wollen, bei welchen die Paarlinge mit wenigen Ausnahmen dauernd zu einem Thiere verwachsen. Hierin liegt eine unverkennbare Aehnlichkeit mit der Copulation: in beiden Fällen verschmelzen zwei Individuen zu einem einzigen Organismus, dessen Kern daher auch wohl 2 verschiedene Idioplasmen in sich birgt. Im übrigen aber verläuft die Conjugation bei den Vorticellinen ebenso wie bei den anderen Infusorien. Der alte Kern zerfällt, seine Bruchstücke werden theilweise oder sämmtlich aufgelöst, und der neue Kern entsteht entweder aus einigen, besonders heranwachsenden Bruchstücken des alten, oder der Nebenkern übernimmt, wo er vorhanden ist, die Rolle des letzteren. Diese vierte und höchste Differenzirungsstufe der Conjugation weist noch eine bemerkenswerthe Eigenthümlichkeit auf: bei vielen Vorticellinen verschmelzen nicht gleich grosse Individuen, sondern es kommt zur Ausbildung von sogenannten Micro- und Macrogonidien. Zu einer Zeit, wo es noch nicht feststand, dass das Wesen der Befruchtung in einer einfachen Vereinigung der Kerne bestehe, wie sie uns z. B. in der Copulation entgegentritt, durfte man gewiss hieraus den Schluss ziehen, welchen Engelmann im letzten Capitel seiner Arbeit aussprach: „die Vorticellinen sind für gewöhnlich geschlechtslos, werden aber zeitweise getrennt geschlechtlich: Gonochoristen.“ Gegenwärtig aber gilt es, sich nicht zu verhehlen, dass zwischen der Befruchtung eines Metazoeneies durch einen Samenfaden und der Verschmelzung einer Micro- und Macrogonidie doch erhebliche Unterschiede bestehen. Vor allem darf man nicht vergessen, dass der Zerfall eines Kernes und dessen theilweise Auflösung Vorgänge sind, die sich absolut nicht mit irgend einem Stadium des Befruchtungsactes der Metazoen vergleichen lassen, und dass es sich augenblicklich noch nicht entscheiden lässt, ob die Kernkugeln der Microgonidie sich direct an dem Aufbau des neuen Kernes der Macrogonidie betheiligen, oder ob sie nicht vielmehr im Cytoplasma der letzteren aufgelöst werden. Meiner Ansicht nach ist es nur erlaubt, die Copulationsvorgänge mit dem Befruchtungsact zu homologisiren, die Conjugation ist dagegen nur als eine Vorstufe der Sexualität anzusehen. Während Copulation und Befruchtung aus dem dem ganzen organischen Reiche innewohnenden Bedürfniss entstanden sind, die Eigenschaften zweier verschiedener Individuen auf ein Thier zu vereinigen, ist die Conjugation der Infusorien eine Folge besonderer biologischer Verhältnisse, welche es nöthig machten, verbrauchte Theile des Kernes periodisch auszuscheiden, und denselben neu zu kräftigen. Dabei haben die Conjugationsprocesse sich allmählich so entwickelt, dass sie, ohne ihrer ursprünglichen Aufgabe untreu zu werden, eine gewisse Aehnlichkeit mit der Befruchtung gewonnen haben und vermuthlich den Vorticellinen auch schon einen Theil der durch diese erzielten Vortheile gewähren. Bei den Paramäcien und Stylonychien ist dieser Höhepunkt noch nicht erreicht, und deshalb finden wir neben der Conjugation eine echte Copulation.

Bei dieser Auffassung der Conjugation ist es natürlich nicht ausgeschlossen, dass dieselbe schliesslich zu einem Stadium führt, das als ein directer Uebergang von der Conjugation zur Copulation angesehen werden darf. Ich denke hier an die *Spirochona gemmipara*, deren Conjugation in mehr als einer Hinsicht bemerkenswerth ist. Zwei jugendliche Thiere, von denen jedes mit 3 Nebenkernen versehen ist, verschmelzen mit einander. Während das Cytoplasma des einen Paarlings durch einen breiten Canal in den Körper des anderen überströmt, durchlaufen beide Kerne sehr merkwürdige, von einander verschiedene Veränderungen, die eine innige Durchmischung der ursprünglich getrennten chromatischen und achromatischen Substanz herbeiführen. Beide Kerne nehmen darauf wieder ihre ursprüngliche Gestalt an und verwachsen. Die Nebenkerne werden zu streifigen Spindeln, betheiligen sich aber nicht, wie man erwarten sollte, an dem Aufbau des neuen Kernes, sondern je zwei derselben vereinigen sich zu einem. Hier haben wir in der That einen Vorgang vor uns, der genau zwischen Conjugation und Copulation steht. Durch jene tumultuarischen Umwälzungen werden die Kerne regenerirt und copuliren sodann. Dabei ist es interessant, dass der geschlechtliche Gegensatz der Kerne schon vor ihrer Vereinigung in der Verschiedenartigkeit ihrer inneren Veränderungen zum Ausdruck kommt.

Schliesslich möchte ich an dieser Stelle noch kurz auf die Ausstossungserscheinungen zurückkommen, die ich im dritten Capitel von verschiedenen Lagenophryen geschildert habe. Etwas Aehnliches ist schon früher von Jickeli in dem oben citirten Aufsatze beschrieben worden. Nach ihm löst sich zuweilen bei *Colpidium colpoda* von dem mächtig angewachsenen Kern ein beträchtlicher Theil ab und zerfällt in viele Stücke, die nach einander am hinteren Ende des Thieres aus-

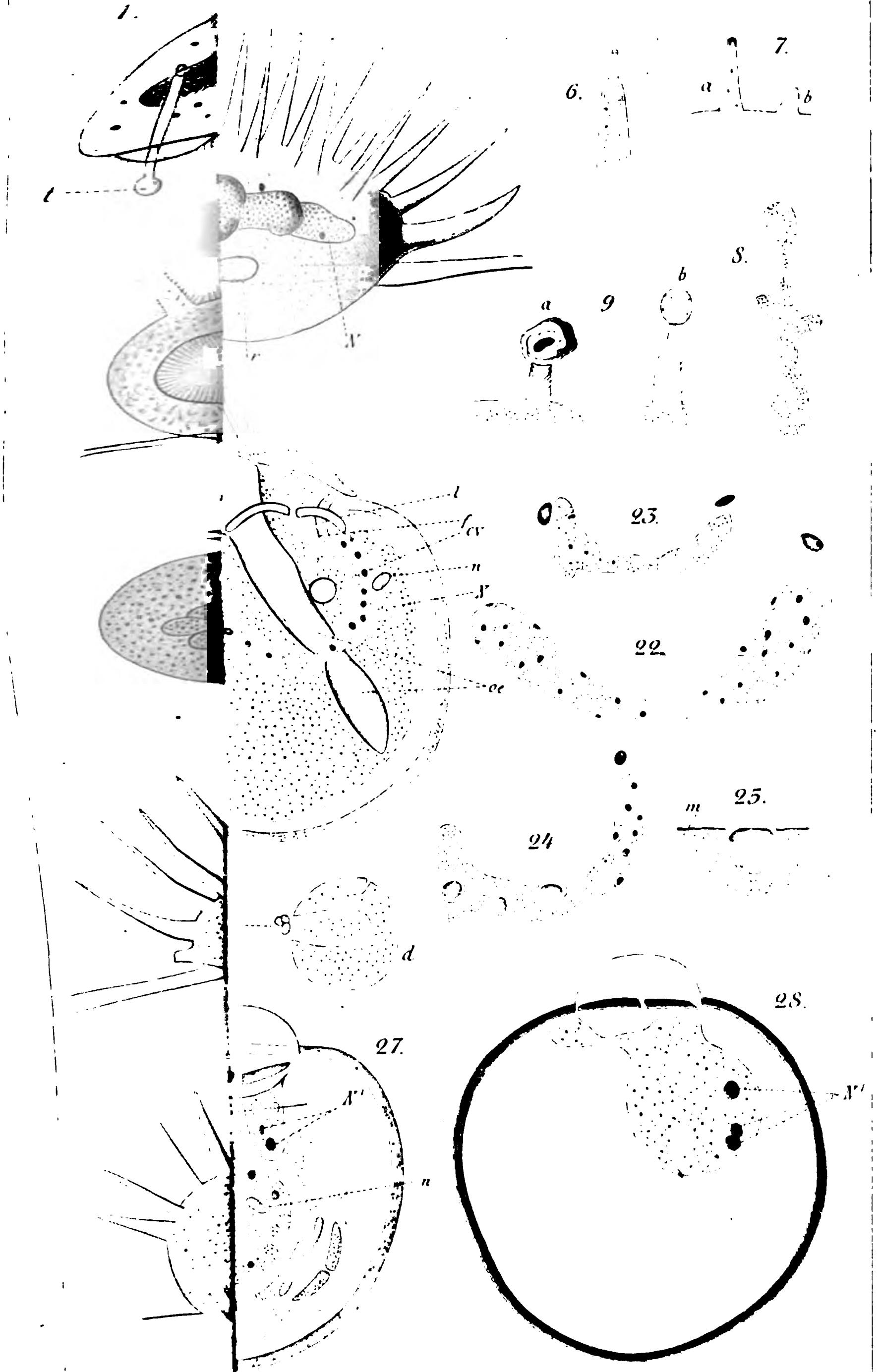
Tafel IV.

Fig. 29, 30. *
„ 31. G.
„ 32, 33.
„ 34—39. G.
„ 40. *
„ 41—45. *Epistylis simulans n. sp.*
„ 41, 43. G.
„ 42, 44, 45. *
„ 46. *Aegyria oliva* Cl. et L.
„ 47, 48. *Noctiluca miliaris* Sur. g.
„ 49—51. *Heliochona sessilis n. sp.* G.

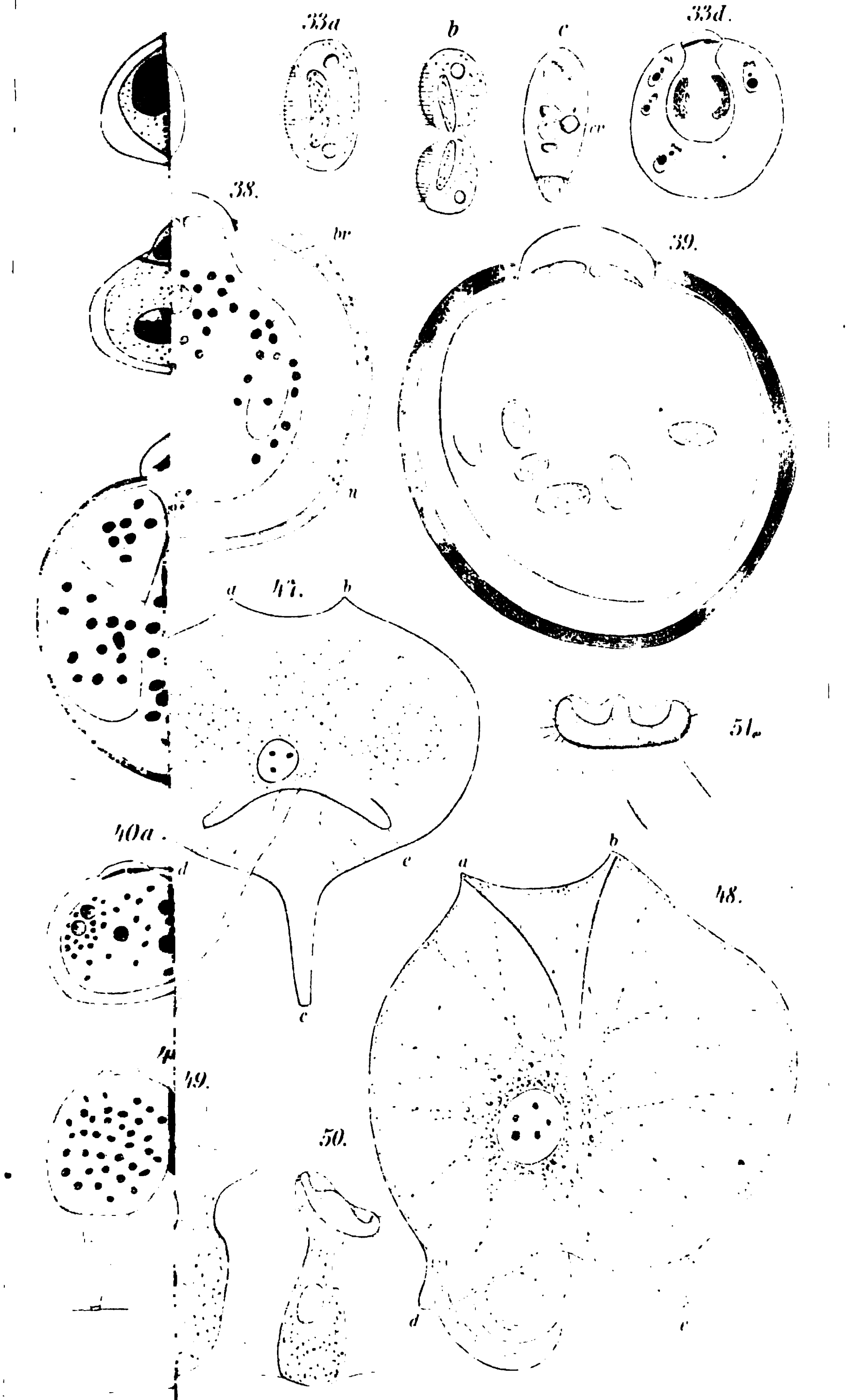
Tafel V.

„ 52—65. *Paramaecium putrinum* Cl. et L.
„ 52. * 53. g. Copulation.
„ 54. * Nebenkern in normalem Zustande.
„ 55—65. Conjugation.
„ 62. G., alles Uebrige *.

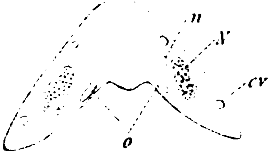
Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.


1.
l
6.
7.
a
b
8.
9.
a
b
N
l
cv
n
N
oe
23.
22.
24.
25.
m
d
27.
N'
n
28.
N'

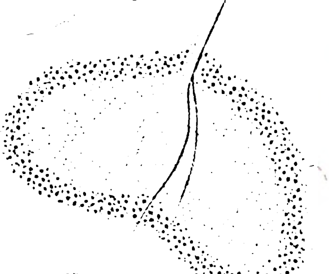
Taf. II.



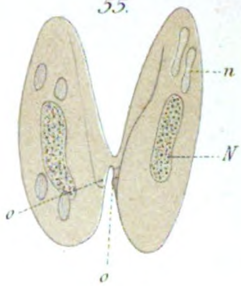
52.



56.



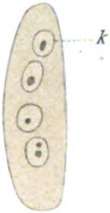
55.



54.

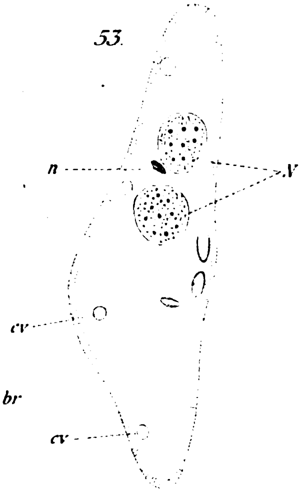
61.

58.

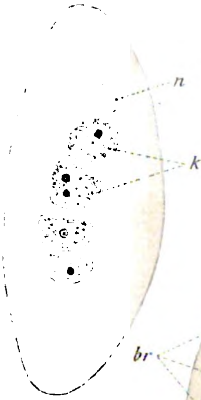


57.

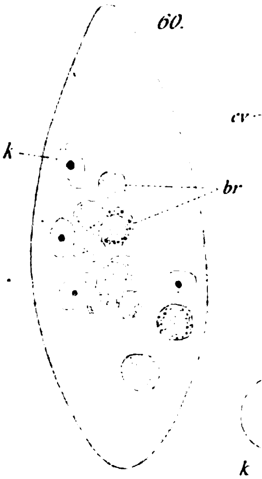
53.



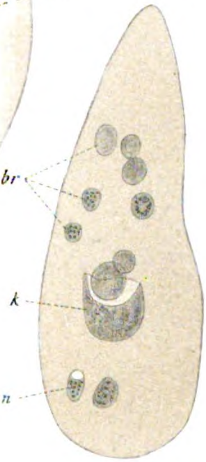
59.



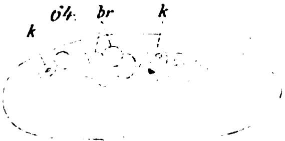
60.



63.

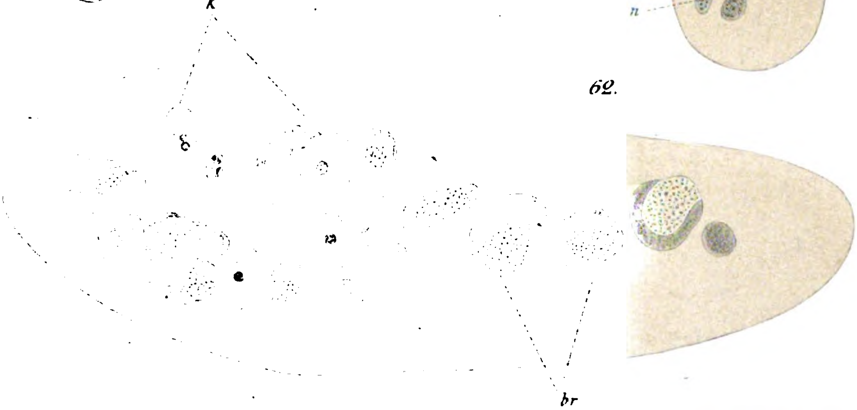


64.



65.

62.



L. Plate del. Verl. v. Gustav Fischer, Jena Lith. Anst. v. A. Giltsch, Jena

Plate, L.
1906

Ueberreicht vom Verfasser.

Nicht im Buchhandel.

(14)

Pyrodinium bahamense n. g., n. sp. die Leucht-Peridinee des „Feuersees“ von Nassau, Bahamas.

Von

L. Plate,

Landwirtschaftliche Hochschule in Berlin.

Mit 1 Tafel.

Abdruck

aus dem

Archiv für Protistenkunde

Herausgegeben von Dr. **Fritz Schaudinn** in Berlin.

Siebenter Band. 1906.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Wissenschaftliche Ergebnisse der Deutschen Tiefsee-Expedition auf dem Dampfer „Valdivia“ 1898—1899. Im Auftrage des Reichsamtes des Innern hrsg. von **Carl Chun,** Prof. der Zoologie in Leipzig, Leiter der Expedition.

Bisher erschienen:

Bd. I. Vollständig.

Ozeanographie und maritime Meteorologie. Im Auftrage des Reichs-Marine-Amts bearbeitet von **Dr. Gerhard Schott,** Assistent bei der deutschen Seewarte in Hamburg, Mitglied der Expedition. Mit einem Atlas von 40 Tafeln (Karten, Profilen, Maschinenzeichnungen usw.), 26 Tafeln (Temperatur-Diagrammen) und mit 35 Figuren im Text. Preis für Text und Atlas 120 Mark.

Bd. II, Teil 1, Lfg. 1.

H. Schenck, I. Vergleichende Darstellung der Pflanzengeographie der subantarktischen Inseln, insbesondere über Flora und Vegetation von Kerguelen. Mit Einfügung hinterlassener Schriften A. F. W. Schimpers. Mit 11 Tafeln und 33 Abbildungen im Text. **II. Ueber Flora und Vegetation von St. Paul und Neu-Amsterdam.** Mit Einfügung hinterlassener Berichte A. F. W. Schimpers. Mit 5 Tafeln und 14 Abbildungen im Text. Einzelpreis: 50 M., Vorzugspreis: 40 M.

Bd. II, Teil 2, Lfg. 2.

G. Karsten, Das Phytoplankton des Antarktischen Meeres nach dem Material der deutschen Tiefsee-Expedition 1898—1899. Mit 19 Tafeln. Einzelpreis: 50 M., Vorzugspreis: 39 M. 50 Pf.

Bd. III. Vollständig.

Prof. Dr. Ernst Vanhöffen, Die acraspeden Medusen der deutschen Tiefsee-Expedition 1898—1899. Mit Tafel I—VIII. — Die craspedoten Medusen der deutschen Tiefsee-Expedition 1898—1899. I. Trachymedusen. Mit Tafel IX bis XII. Einzelpreis: 32,— M., Vorzugspreis f. Abnehmer d. ganzen Werkes 25 M.

Dr. phil. L. S. Schultze, Die Antipatharien der deutschen Tiefsee-Expedition 1898—1899. Mit Tafel XIII u. XIV und **4 Abbild. im Text.** Einzelpreis: 5.— M., Vorzugspreis: 4,— M.

Dr. phil. Paul Schacht, Beiträge zur Kenntnis der auf den Seychellen lebenden Elefanten-Schildkröten. Mit Tafel XV—XXI. Einzelpreis: 16,— M., Vorzugspreis: 13,— M.

Dr. W. Michaelsen. Die Oligochäten der deutschen Tiefsee-Expedition nebst Erörterung der Terricolenfauna ozeanischer Inseln, insbesondere der Inseln des subantarktischen Meeres. Mit Tafel XXII und **1 geographischen Skizze.** Einzelpreis: 4,— M., Vorzugspreis: 3,50 M.

Joh. Thiele, Proneomenia Valdiviae n. sp. Mit Tafel XXIII. Einzelpreis: 3,— M., Vorzugspreis: 2,50 M.

K. Möbius, Die Pantopoden der deutschen Tiefsee-Expedition 1898—1899. Mit Tafel XXIV—XXX. Einzelpreis: 16,— M., Vorzugspreis: 12,50 M.

Günther Enderlein, Die Landarthropoden der von der Tiefsee-Expedition besuchten antarktischen Inseln. I. Die Insekten u. Arachnoiden d. Kerguelen. II. Die Landarthropoden d. antarktischen Inseln St. Paul u. Neu-Amsterdam. Mit 10 Tafeln u. 6 Abbdg. im Text. Einzelpreis: 17 M., Vorzugspreis: 15 M.

Bd. IV. Vollständig.

Hexactinellidae bearbeitet von **Fr. E. Schulze,** Professor in Berlin. Mit einem Atlas von 52 Tafeln. Preis: 120 Mark.

Fortsetzung siehe 3. Umschlagseite.

Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

Pyrodinium bahamense n. g., n. sp.
die Leucht-Peridinee des „Feuersees“ von Nassau, Bahamas.

Von
L. Plate,
Landwirtschaftliche Hochschule in Berlin.

(Hierzu Tafel XIX.)

I. Vorkommen und Leuchten.

Der Fremde, den ein glückliches Geschick nach dem freundlichen Städtchen Nassau, dem Hauptorte des Bahama-Archipels, auf der Insel New Providence, geführt hat, wird von den Einwohnern sehr bald darauf aufmerksam gemacht, daß er hier inmitten einer liebenswürdigen Bevölkerung nicht nur alle Reize des Tropenklimas mit seiner Licht- und Farbenfülle und der Meeresküste mit jeglicher Art von Wassersport genießen kann, sondern daß noch zwei Naturgenüsse besonderer Art seiner harren: die „Seegärten“ und der „Feuersee“. Eine kleine Dampfpinasse führt ihn in einem Boote, dessen Boden zum Teil von einem schmalen Glasstreifen eingenommen wird, zu einer Stelle, wo zwischen zwei kleinen vorgelagerten Inseln das Meerwasser bei jedem Wechsel der Gezeiten reißend hindurchströmt und wo infolge dieser günstigen Ernährungsbedingungen sich zahllose Hornkorallen und einige Steinkorallen, namentlich Poritiden, angesiedelt haben und dem Beschauer einen reizvollen Einblick in die ganze Mannigfaltigkeit und bunte Farbenpracht der Tierwelt eines Korallenriffs gewähren. Ist dann die Dunkelheit der Nacht angebrochen, so fährt man in einem luftigen, nur von einem Zeltdach überspannten Wägelchen eine halbe Stunde weit von der Stadt längs des Meeres nach Osten und kommt hier zu einem kleinen Binnensee, dem „Waterloo- oder Firelake“, der etwa einen halben Quadratkilometer groß sein mag und durch einen ca. 500 m langen, schmalen Kanal mit dem Ozean in offener Verbindung steht, so daß bei jeder Flut frisches Wasser in ihn eindringt. Seine Ufer werden von dichtem Mangrovegebüsch eingenommen, zwischen deren Wurzeln zahlreiche Auriculiden (Melampus coffea L.) umherkriechen, und einzelne schlanke Palmen wiegen ihre graziösen Wedel über der glatten Wasserfläche. Die weiter ins Wasser hineinragenden Ausläufer der Mangroven sind dicht besetzt von Exemplaren einer eigentümlichen hutpilzförmigen Alge, der Acetabularia crenulata Lamx., zwischen denen ich viele Aeolidier und Hydroidpolypen sammelte. Der See liegt abseits von menschlichen Wohnungen, und eine fast beängstigende, kaum von einem Vogelruf durchbrochene Stille herrscht tagsüber an seinen Ufern. Bei Anbruch der Nacht hingegen ändert sich, wie schon angedeutet, das Bild. Ein Wagen nach dem andern rollt heran, und gegen ein Eintrittsgeld von 2 sh wird man durch ein Gitter hindurchgelassen bis dicht an den Rand des Wassers und genießt hier den zauberischen Anblick eines überaus intensiven Meerleuchtens, das sich freilich erst bemerkbar macht, wenn die Flut irgendwie bewegt wird. Jeder Ruderschlag treibt glitzernde Wellen über die Oberfläche, und die herabfallenden Tropfen leuchten wie flüssiges Silber in einem weißlichen, etwas mit Gelb versetztem Lichte, das so intensiv ist, daß man die Stellung des Uhrzeigers erkennen kann. Aufgescheuchte Fische ziehen leuchtende Streifen durch das Wasser und lassen sich weithin verfolgen. Filtriert man das Wasser mit dem feinen Planktonnetz, so ist dessen Innenfläche beim Herausheben aus dem Wasser übersät von phosphorisch leuchtenden Punkten, ein Miniaturbild des in kalter Winternacht funkelnden und flimmernden Sternenhimmels. Als Glanzpunkt der Darbietung springt ein Neger ins Wasser und, während alle Konturen seines Leibes magisch erglänzen, ruft er durch sein Plätschern eine ganze Feuergarbe funkelnder Blitze hervor. Dieses herrliche Naturschauspiel hält in der Regel das ganze Jahr gleichmäßig an, und nur nach starken Regengüssen kann es für einige Tage ganz verschwinden oder wenigstens so an Intensität verlieren, daß der Inhaber dieses in Privatbesitz befindlichen Sees die Besucher zurückweist, um ihnen eine Enttäuschung zu ersparen. Offenbar verliert der See dann durch die direkt auf ihn hinauffallenden oder von den Ufern ihm zufließenden Wassermassen so sehr an Salzgehalt, daß die Leucht-Peridineen in großen Mengen absterben. Vor einigen Jahren ist es, wie der Besitzer, Mr. Knowles, mir mitteilte, auch vorgekommen, daß der See monatelang nicht mehr leuchtete, vermutlich weil die Verbindung mit dem offenen Ozean gestört war und die Aussüßung dadurch besonders intensiv wurde. Man kann sich leicht davon überzeugen, daß eine kleine Dinoflagellate, welche im folgenden beschrieben werden soll, die Ursache des Leuchtens ist, denn wenn man die Organismen mit dem Planktonnetz zu irgend einer Tageszeit gesammelt hat, so halten sie sich tagelang in einem breiten Röhrenglase am Leben und sammeln sich an dem dem Lichte zugewandten Teile der Oberfläche in großen Mengen an, so daß man sie ohne Beimischung anderer Organismen unter dem Mikroskop untersuchen kann. Leider ist das Licht eines Individuums oder einiger weniger aber nicht stark genug, um die Anwendung starker Vergrößerungen zu gestatten. Bei 20—60facher Vergrößerung leuchten die umherschwimmenden Pflänzchen plötzlich und, wie es scheint, ohne irgendwelche äußere Veranlassung, wie etwa Druck oder Stoß, spontan für ungefähr eine Sekunde blitzartig auf, um dann noch 2—3 weitere Sekunden ganz schwach nachzuglühen. Dieses Nachleuchten kann nicht auf subjektiver Nachwirkung des Lichtreizes beruhen, denn man sieht, daß während desselben der Körper sich weiterbewegt. Weiter unten werde ich zeigen, daß das Pyrodinium an seinem hinteren Körperende eine große Zahl von Öltröpfchen aufweist, so daß man vermuten könnte, daß das Licht durch Oxydation derselben hervorgerufen wird. Manchmal schien es mir in der Tat, als ob unter dem Mikroskop das Aufleuchten am hinteren Pol erfolgte, aber bei der Kleinheit und Beweglichkeit des Objektes bin ich nicht zu einem sicheren Resultat gekommen.

Seitdem Michaelis im Jahre 1830 das Leuchten von Peridineen zuerst beobachtet hat, ist es von einer Reihe von Forschern untersucht worden mit dem übereinstimmenden Resultat, daß chemische und physikalische Reize der verschiedensten Art das Aufleuchten veranlassen können. Ich verweise diesbezüglich auf die jüngst erschienenen Arbeiten von Reinke[1], Molisch[2], Zacharias[3] u. Pütter[4], in denen auch die ältere Literatur angegeben ist. Auch ich fand, daß durch Stöße, Temperaturerhöhung, Zusatz von Süßwasser, Alkohol, Formol, Sublimat und Säuren sich plötzliche Lichtblitze hervorrufen lassen. Trotzdem möchte ich nicht mit Zacharias behaupten, daß ein spontanes Aufleuchten unmöglich ist. Er zieht diesen Schluß, weil er fand, daß die Lichtfunken um so seltener sind, je mehr Wasser den Ceratien zur Verfügung steht, mit anderen Worten, je seltener sie zusammenstoßen werden. Dieses Experiment ist meines Erachtens keineswegs „ganz unwidersprechlich“, denn es ist durchaus nicht bewiesen, daß bei gegenseitiger Berührung überhaupt das Aufleuchten eintritt. Aus jenen Versuchen folgt nur, daß das raketenartige Aufblitzen um so häufiger ist, je mehr Individuen in dem betreffenden Quantum sich befinden, ein Schluß, der an sich, auch ohne Experiment, selbstverständlich ist; über die Ursache der Lichterscheinung sagt er jedoch nichts aus. Ich habe bei Pyrodinium das Aufleuchten oft beobachtet, wenn nur wenige Individuen sich im Uhrschälchen befanden, die, ohne sich zu berühren, umherschwammen, und wenn jede Erschütterung vermieden wurde. Ein solches Aufleuchten ohne nachweisbare äußere Ursache nenne ich ein spontanes, was natürlich nicht ausschließt, daß frühere äußere Reize (z. B. beim Fangen und Ausspülen des Gazenetzes) das Protoplasma in einen hochgradigen Erregungszustand versetzt haben, der noch tagelang hinterher Lichtreaktionen hervorruft, etwa wie ein plötzlicher intensiver Schreck lange Zeit bei einer nervösen Person nachwirken kann. Dann wäre das Aufleuchten zwar in letzter Linie immer die Folge eines äußeren Reizes irgendwelcher Art, aber die Reizreaktion braucht nicht sofort zu erfolgen, sondern könnte spontan ausgelöst werden.

---

[1] Reinke, J.: Über das Leuchten von Ceratium tripos. in: Wiss. Meeresuntersuchungen, herausgegeben v. d. Komm. zur Unters. d. deutsch. Meere. N. F. 3. Bd. Abt. Kiel 1898 p. 37.

[2] Molisch, H.: Leuchtende Pflanzen. Jena (G. Fischer) 1904. Kap. II: Über das Leuchten der Peridineen. p. 13—34. Hier wird konstatiert, daß nur den marinen Formen, nicht denen des Süßwassers ein Leuchtvermögen zukommt.

[3] Zacharias, O.: Beobachtungen über das Leuchtvermögen von Ceratium tripos. Biol. Centralbl. 25. 1905 p. 20—30.

[4] Pütter, A.: Leuchtende Organismen. Sammelreferat in der Zeitschr. f. allg. Physiol. 5. 1905 p. 17—53.

II. Bau, Dimensionen und Variabilität des Panzers.

Da die mir vorliegende Art weder in der Schütt'schen Übersicht[1]) über die bis 1896 bekannten Gattungen noch in neueren Arbeiten[2]) zu finden war, so schaffe ich für sie die neue Gattung Pyrodinium mit der einen Art P. bahamense. Der Panzer hat große Ähnlichkeit mit der der Gattung Peridinium, von der er sich hauptsächlich durch andere Zahlenverhältnisse der Täfelung unterscheidet. In Fig. 1 ist die Schale so orientiert, daß die Geißelspalte ungefähr in der Mitte des Körpers dem Beschauer zugekehrt ist. Ich nenne diese halbkugelige Fläche die Bauchseite; Fig. 2 zeigt die gegenüberliegende Rückenseite; in Fig. 3 ist die Ventralfläche um 90° nach rechts, in Fig. 4 um ungefähr ebensoviel nach links gedreht. Diese Bilder lassen erkennen, daß die von zwei breiten Ringfalten eingefaßte Querfurche im Äquator verläuft und demnach die vordere und die hintere Schale annähernd gleich hoch sind. Die vordere verschmälert sich auch zu einem bald etwas breiteren (Fig. 3), bald schmäleren (Fig. 1) Aufsatz, dem Apex, welcher an seinem Rande einen größeren Stachel (η) und häufig noch zwei kleinere trägt. Der Apex endet mit einer Öffnung, und der Zellkörper ist hier und an der Geißelplatte mit dem Panzer verwachsen, so daß auch bei etwas geschrumpftem Zellkörper an diesen beiden Stellen die Verbindung des Protoplasmas mit dem Panzer erhalten bleibt. Der Panzer zerfällt durch das äquatoriale Gürtelband in eine vordere und eine hintere Schale, von denen die erstere den Apex trägt und beim Schwimmen nach vorn gerichtet wird. Der letzteren sitzt am Hinterpol ein Stachel (ε) auf, der meist $2-2^1/_2$ mal so lang wie η ist und sehr oft leicht s-förmig gekrümmt ist (Fig. 1, 4). Beide Schalen werden aus je zwei Reihen von Platten zusammengesetzt, einer polaren und einer äquatorialen, die nach dem Vorgange früherer Autoren (Bütschli, Schütt) als Apicalplatten, vordere Zwischenplatten, hintere Zwischenplatten und Antapicalplatten unterschieden werden mögen. Die Stellung dieser Tafeln zueinander ist am besten aus den Figuren 5 und 6 ersichtlich, welche die obere und untere Schale in der Ansicht vom Pole her darstellen. Die Geißelspalte (*gsp*) ist daran kenntlich, daß die Schalenwand und die Ringfalten an dieser Stelle unterbrochen sind. Der Apex sieht eiförmig aus und ist so orientiert, daß seine Längsachse bei Verlängerung gegen die Ventralfläche zu in die Ebene der Geißelspalte hineinfällt. Der Stachel η sitzt dann auf der linken Seite des Apicalrandes (Fig. 5) und ist eine Fortsetzung der niedrigen Leiste, welche die zwei linksseitigen Apicalplatten B und C voneinander trennt. Die rechtsseitige Platte A ist ungefähr so groß, wie die beiden linken zusammen. Bütschli[1]) rechnet auch die „Rautenplatte“ (*rpl*), jene schiefe Tafel, welche von der Geißelspalte aus nach vorn gegen den Apex zieht, zu den Apicalplatten, weil sie in manchen Gattungen bis zum Apex reicht. Es würden danach 4 Apicalplatten bei **Pyrodinium** vorhanden sein, welche asymmetrisch gestellt sind, während bei der verwandten Gattung **Diplopsalis** diese 4 Endplatten symmetrisch angeordnet sind (vgl. Fig. 31 bei SCHÜTT in ENGLER-PRANTL) und bei **Peridinium** 6 derselben vorhanden sind. Die Zahl der vorderen Zwischenplatten beträgt bei unserer Gattung 6 (bei **Diplopsalis** 5 und bei **Peridinium** 7), und sie verteilen sich ziemlich symmetrisch, so daß je drei auf die rechte und linke Hälfte der Vorderschale kommen (Fig. 5, I—VI). Die Symmetrie würde noch vollständiger sein, wenn die Rautenplatte etwas nach rechts verschoben wäre, so daß I und VI ungefähr gleich groß würden. Daß im übrigen die Formen dieser Platten mancherlei kleine Unterschiede erkennen lassen infolge der Asymmetrie der Polplatten, geht aus den Seitenansichten (Fig. 1—4) deutlich hervor. Die hintere Schale besitzt, wie die vordere, 3 Polplatten, die Antapicaltafeln A', B', C' (Fig. 6), von denen A' und B' so groß sind, daß sie bis an die äquatoriale Querfurche heranragen. A' könnte man als „hintere Rautenplatte" bezeichnen, weil diese Tafel an der Begrenzung der Geißelspalte einen besonderen Anteil nimmt. Wo die 3 Antapicalplatten am Hinterpol zusammenstoßen, erhebt sich der große Stachel ε. Die 5 hinteren Zwischenplatten (I'—V') verteilen sich ziemlich symmetrisch, jedoch ist V' bedeutend kleiner als die vier übrigen, weil die Polplatte B' sich ungewöhnlich vergrößert hat. Bei **Peridinium** und **Diplopsalis** finden wir ebenfalls an der hinteren Schale 3 Terminal- und 5 Zwischenplatten, aber die Anordnung ist eine ganz andere, indem nur eine bis zur Geißelspalte sich ausdehnt und die beiden anderen ganz symmetrisch zu einer sagittalen Naht liegen. Durch die Größe der Antapicalplatten A' und B' erhält die hintere Hälfte der Ventralfläche des **Pyrodiniums** ein ganz charakteristisches Aussehen, welches von dem der vorderen Schale sehr abweicht (Fig. 1, 3, 4).

---

[1]) Schütt, F.: Peridiniales. in: Engler-Prandtl, Die natürlichen Pflanzenfamilien. I. Teil. 1. Abt. b: Gymnodiniaceae, Prorocentraceae, Peridiniaceae, Bacillariaceae. Leipzig (W. Engelmann) 1896.

[2]) Auch nicht in Murray, J. and Whitting, F. G.: New Peridiniaceae from the Atlantic. Trans. Linn. Soc. London (2) Bot. Vol. V p. 321 1899, in welcher Arbeit viele neue tropische Formen beschrieben sind.

---

[1]) Bütschli, O.: Protozoa 1885, II. Abt., 3. Ordn. Dinoflagellata p. 906—1029, Taf. LI—LV, in Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreichs Bd. I.

Alle Felder der Schalen sind durch derbe Leisten begrenzt, die sich an den Eckpunkten sehr häufig zu niedrigen Knoten erheben. An den folgenden Stellen sind sie zu Stacheln ausgezogen: an der vorderen Schale 1. der Stachel η, welcher meist (Fig. 1—3) dem freien Rande des Apex aufsitzt, zuweilen (Fig. 4) aber bis zur Basis desselben herunterrückt. Er stellt die Fortsetzung der Leiste dar, welche die Polplatten B und C voneinander trennt. 2. Zwei ganz kleine Stacheln am Apicalrande als Fortsetzung der Leisten zwischen den Platten B und A resp. A und C. Sie können zuweilen fehlen. 3. Noch seltener ist ein kleiner Stachel an jenem Punkte, wo die

Leiste l von A entspringt (Fig. 4), und ein anderer, wo die Leiste f von B ausgeht (Fig. 3). Wenn diese Stacheln vorhanden sind, fand ich ab und zu auch zwei Flügelmembranen, die in Fig. 4 u. 5 mit punktierten Linien eingetragen sind und die sich von den Apicalstacheln, den Leisten folgend, über f resp. über l (und zuweilen auch über p Fig. 2) entlang bis zur oberen Äquatorialfalte fortsetzten. Sie sind aber nicht häufig. Als eine erste Andeutung der von η ausgehenden Flügelmembran sieht man öfters eine zarte Haut an der Basis dieses Stachels. Fig. 2 läßt erkennen, daß zuweilen nur eine Flügelfalte der Vorderschale auftritt, die bei dem abgebildeten Exemplar der Leiste p (anstatt l) folgte. Es zeigt sich also bei diesen Schalenbildungen eine nicht geringe Variabilität. Dasselbe gilt für die Hinterschale. Der Hauptstachel ε ist immer vorhanden, wenn auch von recht wechselnder Länge. Ein kleiner Stachel γ (Fig. 1, 4) sitzt dort, wo die drei Platten IV', B', C' zusammenstoßen. Er dient einer großen Flügelmembran zur Stütze, welche sich zwischen ε und γ ausspannt und dann über der Leiste r sich bis zur unteren Ringfalte fortsetzt, wobei häufig noch ein kleinerer Dorn (δ) dort sich einschiebt, wo c und r zusammenstoßen (Fig. 1, 4, 6). Eine ganz ähnliche Flügelmembran geht von ε aus zu dem kleinen Stachel ζ, welcher in dem Eckpunkt liegt, in dem die Tafeln A', C', II' zusammenstoßen (Fig. 6), und hört hier entweder auf (Fig. 3) oder läßt sich an der Leiste k entlang noch bis zum hinteren Äquatorialring verfolgen (Fig. 1). Endlich geht von dem großen Stachel ε noch eine dritte Flügelmembran aus, welche wir aus gleich zu erörternden Gründen die Verschlußmembran nennen wollen. Sie begleitet die Leiste b bis zur Geißelspalte und wird in vielen Fällen, aber nicht immer, noch von dem kleinen Stachel β (Fig. 1, 6) gestützt, der meist dort sitzt, wo die Leiste b winkelig umgebogen ist. Zuweilen rückt β ganz dicht an ε heran, so daß in einzelnen Exemplaren sogar β aus der Basis von ε entspringt. Andererseits kann β unter Umständen auch vollständig fehlen, wie dies aus Fig. 3, 4 ersichtlich ist. Die hintere Rautenplatte A' wird auf der anderen Seite von der Leiste a begrenzt, die in eine niedrige Falte ausgezogen ist und beim Zusammentreffen mit q sich zum Stachel α verlängert. Der letztere ist zuweilen nur klein (Fig. 3), in anderen Fällen (Fig. 1) von mittlerer Größe und zuweilen so ansehnlich (Fig. 4), daß er ε ungefähr gleichkommt und weit nach hinten vorspringt. Die Verschlußmembran legt sich nun mit ihrer freien Kante auf die Falte a hinauf und verschließt so einen trichterförmigen Raum (Fig. 6), der nach hinten zu mit weiter Öffnung aufhört, gegen die

Geißelspalte zu aber immer enger und niedriger wird und die Wurzel der Längsgeißel (lfl) schützend umhüllt. Das freie Ende derselben ragt weit hinaus und bewirkt die Vorwärtsbewegung des Pyrodiniums, wird aber bei irgendwelcher Reizung sofort in die schützende Tasche zurückgezogen. Fig. 7 zeigt einen optischen Schnitt ungefähr durch die Mitte der Geißelhöhle; a war 12 μ, b 8 μ hoch; fl ist ein Stück des verknäuelten Geißelfadens. Von der Mitte an nach hinten zu legt sich die Verschlußmembran b nicht immer eng an a an, so daß die Höhle durch einen Spalt mit der Umgebung kommunizieren kann, während die vordere Hälfte mir immer geschlossen erschien. Aber häufig war auch hinten von einem Spalt nichts zu sehen, sondern die Verschlußmembran schien sich überall fest an a anzulegen (Fig. 4). Man darf hieraus wohl schließen, daß die Membran etwas kontraktil ist und daher ihre Stellung ein wenig zu wechseln vermag.

Das äquatoriale Gürtelband beschreibt eine niedrige Spirale (Fig. 1, 3), in dem bei der Ansicht von der Bauchseite die linke Hälfte etwa um die Breite des Bandes selbst weiter nach hinten zu liegt als die rechte. Das Band besteht, wie wohl allgemein bei Peridineen, aus einer Anzahl schmaler Stücke von wechselnder Breite, deren oft nur schwer sichtbare Nahtlinien in die Fig. 2, 3, 4 eingetragen worden sind. Im ganzen zähle ich 8 solcher Stücke, von denen das breiteste auf der Rückenseite liegt (Fig. 2), während die zwei kleinsten und eigenartigsten die Geißelspalte begrenzen und die Verbindung der beiden Spiralenden durch eine in der Mitte der Bauchseite befindliche kurze Längsfurche bewirken (Fig. 8, x, y). Aus den Zeichnungen ist ersichtlich, daß die Nahtlinien der Gürtelstücke nicht mit den Schalenleisten korrespondieren, weshalb diese trotz ihrer Kleinheit als selbständige Tafeln anzusehen sind. Fig. 8 zeigt ein Exemplar, bei dem durch Druck des Deckglases die Schale etwas gesprengt war. Auf der rechten Seite der Zeichnung sind die an die Geißelspalte stoßenden Gürtelstücke an der hinteren Schale, auf der linken Seite an der vorderen Schale haften geblieben, was übrigens Zufall ist, da die Befestigung der Stücke nach allen Seiten die gleiche ist. Die Geißelspalte (gsp) verläuft zwischen den Stücken x und y gerade von vorn nach hinten und setzt sich dann noch eine kleine Strecke auf die Hinterschale fort, indem die hintere Rautenplatte A′ nicht bis an das Gürtelband heranreicht, sondern zwischen I′ und B′ einen Spalt freiläßt. In dem vorderen Teil der Geißelspalte entspringt die Quergeißel qfl, in dem hinteren die Längsgeißel lfl. Auf y bemerkt man eine hakenförmig gebogene Linie, deren Deutung mir nicht ganz klar geworden ist, entweder ist sie eine einfache Verdickung oder sie stützt den Rand der hinteren Ringfalte. Wie weiter unten ausgeführt werden soll, läuft die Quergeißel um die ganze Gürtelfurche herum und ist mit ihrem distalen Ende wahrscheinlich wieder an dem Protoplasma der Geißelspalte befestigt. und zwar etwas nach vorn von der Wurzel derselben. Ich habe diese Verhältnisse aber, da sie nicht völlig sicher sind, nicht in Fig. 8 mit aufgenommen. Die hintere Rautenplatte endet gegen die Geißelspalte zu mit einem bogenförmigen Rande, der aber so zart ist, daß man ihn nur mit einer sehr guten Ölimmersionslinse wahrnehmen kann. Die Ringmembranen sind ungefähr 8 μ breit und erscheinen entweder ganz strukturlos oder sie zeigen eine sehr zarte Körnelung in ringförmiger Anordnung (Fig. 9). Sie werden gestützt durch Rippen. welche den Leisten der Zwischenplatten entsprechen (Fig. 2, 3, 5, 6) und von denen daher an der vorderen Falte 7, an der hinteren 6 vorhanden sind. Ihre gegenseitige Lage zueinander ist aus Fig. 5 ersichtlich, wo die Rippen der hinteren Falte punktiert in die vordere Falte eingezeichnet sind. Die Rippen reichen meist bis zum Rande der Falte, zuweilen (Fig. 9) sind sie etwas kürzer. Diejenigen 4, welche die Innenränder der Falten neben der Mundspalte begrenzen, sind ein wenig gebogen und kürzer, da die Falten sich hier etwas verschmälern.

Hinsichtlich der feineren Struktur der Schalen hebe ich zunächst hervor, daß die Leisten, welche die Grenze zwischen je zwei Platten bilden, immer nur zu einer derselben gehören, also einheitlich sind. wie dies bei Sprengung des Panzers deutlich zu sehen ist (Fig. 10, wo die Leiste l nur zu III gehört). Schütt fand bei verschiedenen Peridineen. daß sich die Platten durch falzartige Ränder aneinander heften. Bei Pyrodinium ist dies nicht der Fall, die Ränder schließen glatt aneinander, nur einmal (Fig. 10, fz) fand ich einen ganz schmalen Saum, der in diesem Sinne gedeutet werden könnte. Alle Platten werden von zahlreichen Poren durchbrochen, die zu nicht ganz regelmäßigen Reihen angeordnet sind und nicht bis unmittelbar an die Leisten herantreten. Die Stücke des Gürtelbandes tragen je eine Reihe Poren neben dem Vorder- und dem Hinterrande. Auf den Leisten selbst fehlen sie, und auch die Wände des Apex sind frei von ihnen (Fig. 10, A), obwohl sie um die Apicalöffnung (o) herum wieder auftreten und vereinzelt (bei a) sehr groß werden. Fig. 11 stellt den Apex einer leeren Schale von innen gesehen dar, um die Verteilung dieser Poren um die unregelmäßig dreieckige Apicalöffnung herum zu zeigen. Merkwürdigerweise findet sich fast bei allen Exemplaren auf Platte B eine Pore, die ungefähr 8mal so groß ist wie die übrigen. Sie liegt konstant neben dem Schnittpunkt der Leisten d und e (Fig. 11, 5, 1); ob sie irgend eine besondere Bedeutung hat (Ausmündung einer Pusule?), ist mir verborgen geblieben. Daß es sich bei allen diesen „Poren" wirklich um kleine Kanäle handelt, welche die Schalenwand durchsetzen, nicht bloß um Tüpfel oder um Gruben, davon kann man sich auf optischen Durchschnitten leicht überzeugen (Fig. 7, 10 bei A, 12). Sehr häufig sind die inneren Öffnungen etwas größer als die äußeren, so daß sich der Kanal nach außen zu leicht kegelförmig verjüngt. Auf solchen optischen Schnitten erscheint die Schalenwand meist ganz homogen, nur einmal beobachtete ich eine zarte Längslinie (Fig. 12), als ob zwei Wandschichten vorhanden wären.

Die Dimensionen des Panzers sind im Durchschnitt die folgenden:

Querdurchmesser des Panzers im Äquator: 48 μ.

Längsdurchmesser von dem Rande des Apex bis zur Basis des Stachels ε: 50—52 μ, wovon 5—10 μ auf den Apex kommen. In der Regel ist die Länge etwas größer als die Breite, nur einmal fand ich für beide Maße 54 μ.

Höhe der äquatorialen Ringmembran: 6 μ, schwankend zwischen 4 und 8 μ.

Höhe des Gürtelbandes: 4 μ.

Apicalöffnung: 12:8 μ.

Dicke der Schalenwand (nicht an den Leisten gemessen): 2 μ, schwankend zwischen 0,8—4 μ. Je dicker die Schale, desto deutlicher sind die Poren.

Öffnung der Poren, außen gemessen: $^1/_4$ μ; die große Pore auf Platte B: 2 μ.

Länge des Stachels ε: 16 μ, schwankend zwischen 10—20 μ.

Länge des Stachels η: schwankend zwischen 0—8 μ.

Diese Maße beziehen sich nur auf ausgewachsene Individuen; es ergibt sich aus ihnen ein beträchtlicher Grad von Variabilität, die sich sicherlich noch als viel umfassender erweisen würde, wenn man besondere Studien nach dieser Richtung anstellen würde. Mir fehlte es hierzu an Zeit, jedoch seien hier noch folgende individuelle Variationen erwähnt, die ich gelegentlich angetroffen habe.

Stachel η sitzt manchmal neben der Basis des Apex, anstatt auf dessen freiem Rande (Fig. 4); wenn die oben erwähnten zwei Flügelmembranen, welche von ihm ausgehen, fehlen, so können sie durch schmale Membranen von der Länge des Stachels angedeutet sein.

Stachel β (Fig. 1) variiert mehr wie irgend ein anderes Element des Panzers. Einmal fehlte die oben geschilderte Verschlußmembran der Längsgeißelhöhle und β lag in der Flügelmembran εζλ (Fig. 1) und entsprang dabei von der Basis von ε. Mehrere Male fehlte β vollständig oder, wenn vorhanden, entsprang β an der Basis von ε. Bei einem derartigen Falle waren die Rollen von β und ε gleichsam vertauscht, indem β sehr dick, ε sehr zart war, während die Größenverhältnisse sich nicht verändert hatten.

Die Stacheln α, γ, δ, ζ sind zuweilen so niedrig, daß man sie nur als Höcker bezeichnen kann.

Alle Flügelmembranen, namentlich aber die der hinteren Schale, reichen zuweilen nicht bis zum Äquatorialring, sondern nur bis zum ersten Stachel oder Leisteneckpunkt, also die von ε ausgehenden nur bis γ (resp. auch δ) oder bis ζ. Es mag sein, daß sie manchmal noch etwas weiter vorrücken, aber sie werden dann so niedrig, daß sie sich von den Leisten nicht deutlich unterscheiden lassen.

Die Leiste e, welche die Platten VI und B der oberen Schale begrenzt (Fig. 1), ist häufig im Bereiche von VI so zart, daß man sie kaum wahrnimmt oder ihre Lage nur aus dem Fehlen von Poren erschließen kann. Gegen den Apex zu reicht e oft nur bis etwas über den Punkt hinaus, wo der Buchstabe e in die Fig. 1 eingetragen ist, und hört hier plötzlich auf, so daß die Platten B und rpl dann nur unvollkommen getrennt sind.

Die ovale Apicalöffnung (Fig. 5, 11) ist meist so orientiert, daß die Längsachse der Dorsoventralebene entspricht: einmal fand ich diese Achse senkrecht auf dieser Ebene stehend, wobei der Stachel η fehlte; in einem anderen Falle war die Öffnung fast rund.

III. Protoplasma, Geißeln, Kern und Einschlüsse.

Aus der Verschiedenartigkeit der Panzerplatten und ihrer gesetzmäßigen Anordnung läßt sich nur der eine Schluß ziehen, daß auch der Zellkörper in seinen einzelnen Regionen Strukturunterschiede aufweisen muß. Dieser Schluß wird durch die Untersuchung bestätigt, denn wir finden, daß alle wichtigsten Elemente eine ganz konstante Lagerung im Zellkörper aufweisen. Ich habe daher auch bei den lebenden Exemplaren nie Strömungen im Protoplasma beobachtet; sollten aber solche dennoch ab und zu vorkommen, so können sie nur in den Maschen einer festeren Gerüstsubstanz stattfinden, welch letztere dann den Kern, die Chromatophoren, den

Nebenkörper und andere Teile in ihrer Stellung festhalten würde. Zu äußerst wird das Protoplasma begrenzt von einer Membran (Fig. 2, 13), die bei starker Vergrößerung deutlich doppelt konturiert erscheint und die offenbar dem „Periblast“ von Schütt entspricht. Das Protoplasma selbst soll nach Schütt aus dem äußeren „Hüllplasma“ mit Chromatophoren, Fett- und Öltröpfchen und dem inneren „Füllplasma“ mit Kern, Vakuolen und Saftkammern bestehen. Bei Pyrodineen, welche mit Chromosmiumsäure konserviert wurden, ist eine scharfe Sonderung dieser beiden Zonen nicht möglich, aber sie wird dadurch angedeutet, daß die Chromatophoren (chr) als schmale Stäbchen oder Bänder in radienartiger Anordnung die äußere Hälfte des Zellkörpers einnehmen. Die Chromatophoren und andere Einschlüsse werden getragen von derberen Protoplasmasträngen, die ebenso orientiert sind und sich nach innen zu häufig noch etwas über die Chromatophoren hinaus verfolgen lassen (Fig. 13). Weiter gegen den Kern zu hört der radiärfaserige Bau des Protoplasmas auf und dasselbe wird feinkörnig und entbehrt der Einschlüsse mit Ausnahme des „Nebenkörpers“, welcher nicht selten bis dicht an den Kern heranrückt. Die Chromatophoren sehen im Leben gelbbraun (Farbe 305 der Farbenskala von Richard Jordan, Fürth 1892) aus, und ein fast ebenso gefärbter, aber etwas hellerer diffuser Zellsaft erfüllt alle Maschenräume des Protoplasmas. Diese Assimilationsorgane sind bald größer, bald kleiner, haben aber im Leben immer eine wurst- oder bandförmige Gestalt, die bei Konservierung mit Chromosmiumsäure sich gut erhält; werden sie durch Druck des Deckglases aus dem Panzer herausgepreßt, so ziehen sie sich zusammen und werden rundlich oder oval, eine Veränderung, die auch bei mangelhafter Konservierung beobachtet wird.

Der Kern (nu, Fig. 2, 6, 13, 15, 16) ist ein sehr ansehnlicher wurstförmiger Körper, welcher regelmäßig in der Mitte des Zellkörpers liegt. Im lebenden Tiere erscheint er als eine helle strukturlose Scheibe, die so durchsichtig ist, daß man sie zunächst für eine Vakuole halten könnte. Erst nach der Abtötung mit Chromosmiumsäure lassen sich weitere Details erkennen. Wie aus Fig. 6 ersichtlich, ist der Kern hufeisenförmig gebogen, wobei die Konkavität stets der Bauchseite zugekehrt ist. Seine Breite beträgt in der Mitte etwa 10 μ, die Länge 44—48 μ, seine Höhe senkrecht zur Äquatorialebene ca. 12 μ. Er zeigt im Innern nicht die fädige Struktur, welche für so viele Peridineenkerne von Bütschli, Schütt und anderen Autoren angegeben wird, sondern ähnelt mehr der von

Lauterborn[1]) für Ceratium hirundinella entworfenen Schilderung. Der Kern des Pyrodinium wird erfüllt von zahllosen winzig kleinen Körnchen, die alle homogen und rundlich aussehen. Auch bei Anwendung der stärksten Vergrößerung (Apochr. 2 mm, Oc. 8) gelang es mir nicht, feine Verbindungsfäden zwischen ihnen zu beobachten. Trotzdem halte ich es nicht für unmöglich, daß sie existieren, denn dann würde die Übereinstimmung mit dem feinmaschigen Netzwerk des Ceratium sehr groß sein. Ist die Konservierung weniger gut und der Kern etwas geschrumpft, so können die Körnchen so eng zusammenrücken, daß der Nukleus fast homogen erscheint. Er wird nach außen von einer dünnen Membran begrenzt, welche bei stärkster Vergrößerung selbst wieder eine Zusammensetzung aus länglichen Knoten (Fig. 15) erkennen läßt. Nukleolen, welche Lauterborn regelmäßig in geringer Anzahl antraf, fehlen hier fast immer; nur in ganz vereinzelten Exemplaren (Fig. 16) war etwa ein Dutzend runder Körner durch das Kerninnere verteilt, welche sehr viel größer waren und sich stärker tingierten als die ganz kleinen Körnchen, so daß sie als Nukleolen gedeutet werden können. Da mein Material mit Chromosmium konserviert war, färbte es sich anfangs schlecht; durch Nachbehandlung mit Wasserstoff-Superoxyd wurde aber ein normales Tinktionsvermögen wieder hergestellt, so daß über die Kernnatur des beschriebenen Gebildes kein Zweifel aufkommen kann. Kern- und Zellteilungen habe ich leider nicht beobachtet, wahrscheinlich weil sie, wie bei anderen Peridineen, in der zweiten Hälfte der Nacht oder in den ersten Morgenstunden stattfinden. Unter den am Tage und abends bis gegen 10 Uhr gefangenen Exemplaren befand sich auch nicht ein einziges Teilungsstadium.

Am Hinterende der Zelle, dicht vor dem Stachel ε, liegt ein eigentümliches farbloses Gebilde, dessen Bedeutung mir nicht klar geworden ist und das ich daher einfach als „Nebenkörper“ (Fig. 2, 6, 13, nb) bezeichnen will. Ich habe ihn bei Hunderten von Individuen mit Regelmäßigkeit angetroffen und nur in einigen Fällen, in denen das Exemplar ungünstig lag oder sehr dicht mit Ölkügelchen erfüllt war, ihn nicht ganz sicher feststellen können, was aber natürlich nicht ausschließt, daß wir es hier mit einer konstanten Organelle zu tun haben. Der Nebenkörper ist am leichtesten zu beobachten an Exemplaren, die mit Hämatoxylin gefärbt und in Kanadabalsam aufbewahrt worden sind, weil er dann schwach gefärbt erscheint und die ihn umgebenden Öltröpfchen so aufgehellt werden, daß sie ihn nicht mehr zu verdecken vermögen. Mit Boraxkarmin läßt er sich auch tingieren, aber dieser Farbstoff ist weniger zu empfehlen, weil das Protoplasma der Zelle sich in ihm ebenso stark färbt wie der Nebenkörper, und beide auch gleich rasch sich entfärben bei Zusatz von Salzsäure, so daß jener sich nie deutlich abhebt. Nur bei ganz frisch getöteten Individuen färbte sich der Nebenkörper, wenngleich erst im Laufe von 12—24 Stunden, viel leichter und stärker mit Boraxkarmin, als der Kern oder das Zellplasma, so daß ich vorübergehend den Nebenkörper für den Nukleus gehalten habe. In Gestalt und Größe ist er manchen Schwankungen unterworfen. Er ist meist länglich-oval (Fig. 2, 13), zuweilen auch nieren- oder keulenförmig, oder hat die Gestalt eines Bläschens (Fig. 17). Im Innern erkennt man entweder nur eine helle Flüssigkeit nebst einigen wandständigen Verdickungen (Fig. 17, b) oder körniges Protoplasma mit oder ohne Vakuole (c, d, e) und meist mit mehreren peripher gelegenen dicken Körnern. Gar nicht selten wird der Nebenkörper fast ganz von einem Klumpen oder von einigen großen dichten Schollen oder Ballen erfüllt (Fig. 17 a, 13). Von oben gesehen (Fig. 6, nb) sieht er immer rund aus. Von der Seite betrachtet und nach beiden Hauptrichtungen gemessen fand ich bei 5 Exemplaren: 11 : 3, 6 : 4, 8 : 5, 8 : 6, 4 : 4 *u* als ein Zeichen großer individueller Veränderlichkeit. Dabei ließ sich nicht erkennen, daß bei großen Individuen auch der Nebenkörper besonders herangewachsen war oder daß die Größe desselben korrelativ mit der Menge der Öltröpfchen zunahm. Jodjodkali ruft keine Färbung an ihm hervor, und auch durch Kalilauge, Säuren, Chloroform und Äther waren keine Reaktionen zu bewirken. Schütt erwähnt in seiner schönen Monographie der Peridineen bei verschiedenen Arten ähnliche größere Körper, die auch häufig am hinteren Körperende liegen, und faßt sie, da über ihre Funktion nichts bekannt ist, als „Pachysomen" zusammen. Hierhin möge vorläufig auch der Nebenkörper des Pyrodinium gerechnet werden. Seine Lage am hinteren Körperpol ist ganz konstant, jedoch reicht er je nach Größe bald bis dicht an den Zellkern hinan (Fig. 2), bald bleibt er fast ganz innerhalb der Chromatophorenzone.

---

[1]) R. Lauterborn: Protozoen-Studien. I. Kern- und Zellteilung von Ceratium hirundinella O. F. M. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 59 1895 p. 167—190 Taf. XII, XIII.

Von anderen Einschlüssen des Protoplasmas erwähne ich zunächst farblose Fettropfen (Fig. 13, ft), die in sehr wechselnder Zahl und Größe vorkommen und leicht daran erkannt werden, daß sie sich mit Osmium intensiv schwärzen. Sie liegen meist zwischen den Chromatophoren und sind an keine bestimmte Zellregion gebunden. Im Gegensatz zu ihnen finden sich die oben schon mehrfach erwähnten Öltröpfchen (Fig. 2, 13, st), welche regelmäßig in sehr großer Zahl in der Umgebung des Nebenkörpers und zwischen den Chromatophoren des hinteren Körperendes vorkommen. Sie haben einen starken Glanz, sind kugelrund, fast alle von gleicher Größe und haben einen Durchmesser von 1—2 μ, der in einzelnen Fällen bis auf 4 μ steigt. Sie dringen nur wenig nach innen über die Zone der Chromatophoren hinaus, so daß das dichtkörnige Innenplasma der Zelle von ihnen frei ist oder doch nur sehr wenige aufweist. In der vorderen Hälfte der Zelle kommen sie nie vor, woraus zu schließen ist, daß sie nicht direkt von den Chromatophoren produziert werden. Dagegen ist es sehr wohl möglich, daß sie direkt oder indirekt von dem Nebenkörper erzeugt werden, denn in seiner Umgebung sind sie besonders zahlreich und werden um so spärlicher, je weiter sie von ihm abliegen. Ich hielt sie anfangs für stärkeartige Gebilde, weil sie sich mit Jodjodkali rasch und intensiv schwarzbraun färben, bin aber von dieser Ansicht abgekommen, weil sie im polarisierten Lichte nicht aufleuchten. Durch absoluten Alkohol, Essigsäure, Kalilauge, Chloroform und Äther werden sie nicht gelöst, wohl aber durch starke Salpetersäure. In Eosin, Boraxkarmin und Hämatoxylin färben sie sich in demselben Maße wie das umgebende Protoplasma, so daß sie hierdurch nicht sichtbar gemacht werden können. In Glyzerinpräparaten treten sie deutlich hervor, obwohl die Jodjodkalifärbung dadurch aufgehoben wird; weniger klar erkennt man sie in Xylol, und in Kanadabalsam werden sie wegen der starken Lichtbrechung fast unsichtbar. Osmiumsäure bewirkt keine Schwärzung der Körnchen. Aus diesen Reaktionen läßt sich nur soviel entnehmen, daß diese Stoffwechselprodukte mit den von Schütt (l. c. p. 85) als β-Öle bezeichneten Einlagerungen identisch oder nahe verwandt sind. — Endlich finde ich in einigen meiner Glyzerinpräparate, die ich in Nassau mit frisch konserviertem Material herstellte, hellgrüne, ölartige Tropfen (Fig. 13, öl) von zuweilen recht ansehnlicher Größe, die besonders in der vorderen Zellhälfte liegen.

Über die Vakuolen resp. Pusulen, welche Schütt so ausführlich untersucht und als konstante Zellelemente nachgewiesen hat, vermag ich wenig zu sagen, da sie an lebenden Individuen studiert werden müssen. Ich finde an den konservierten Exemplaren regelmäßig eine große Vakuole (Fig. 13, vac), welche in der vorderen Zellhälfte und bei Betrachtung der Rückenfläche auf der linken Seite liegt. Wenn sie recht groß ist, so rückt sie nach innen zu fast bis an den Kern hinan. An lebenden Pyrodinien ist sie mir nicht aufgefallen, doch kann es sich nicht um ein Kunstprodukt handeln, da sie auch bei tadelloser Konservierung regelmäßig beobachtet wird.

Wie die beiden Geißeln in der Geißelspalte entspringen, habe ich oben schon erwähnt. Diese beiden Bewegungsorgane sind in ihrem Bau und in ihrer Anheftung so verschieden, daß sie sicherlich auch in ihrer Funktion voneinander abweichen werden. Die Quergeißel (Fig. 14, qfl) ist ein etwa $1^1/_2$ μ breites Band, dessen Flächen parallel mit den beiden Ringfalten der Querfurche verlaufen. Der innere, den Gürtelstücken des Panzers anliegende Saum des Bandes ist verdickt, der äußere ist im Leben sehr zart und führt undulierende Bewegungen aus, wobei das ganze Band sich sehr oft plötzlich ruckweise zusammenzieht, wie wenn ein gedehnter Gummiring sich auf einen etwas kleineren Durchmesser zusammenzieht. Diese ruckartigen Kontraktionen finden darin ihre Erklärung, daß beide Enden der Quergeißel sehr wahrscheinlich in der Geißelspalte mit dem Zellkörper verbunden sind (Fig. 1), wovon man sich an lebenden und gut konservierten Exemplaren überzeugen kann. Das mehr nach hinten zu gelegene Ende hat als die Basis der Quergeißel zu gelten, denn es ist etwas dicker als das vordere und außerdem wurzelt es fester im Protoplasma, so daß es nie abreißt, während das andere bei der Konservierung zuweilen sich losreißt und frei aus der Querfurche nach außen ragt. In einem solchen Falle (Fig. 14, b) kann der bewegliche Saum bei der Konservierung etwas schrumpfen, und er erscheint dann als ein Spiralband, welches um die Geißel herumläuft. Bei guter Konservierung erhalten sich auch die Wellen und Täler des undulierenden Saumes sehr deutlich (Fig. 14, a), aber die Außenlinie verdickt sich etwas und verliert ihre ursprüngliche Zartheit. Schütt fand das letzte Ende der Quergeißel meist frei und nicht bis in das letzte Viertel der Furche hineinreichend; er ist auch geneigt, die Bandform als einen pathologischen Zustand anzusprechen. Ich bin sicher, hinsichtlich der Form der Quergeißel keine unrichtigen Angaben gemacht zu haben, da die Beobachtungen am lebenden und konservierten Material zu den gleichen Ergebnissen geführt haben. Die Längsgeißel ist ein langer dünner Faden ohne besondere Struktureigentümlichkeiten. Hinsichtlich der Funktion dieser Organellen möchte ich mich der von Schütt geäußerten Ansicht anschließen, daß die Längsgeißel in erster Linie der Vorwärtsbewegung, die Quergeißel der Rotation dient. Ich weiche nur darin von ihm und von Bütschli ab, daß ich dem Pyrodinium die Fähigkeit einer eigentlichen Steuerung abspreche. Die taumelnde

Bewegungsweise scheint mir nicht dafür zu sprechen, daß sie bewußt oder unbewußt eine bestimmte Richtung auch nur auf einer kurzen Strecke einigermaßen genau einzuhalten vermögen, wozu ja auch keine Veranlassung vorliegt. Die unsymmetrischen Flügellamellen müssen bei der rotierenden Fortbewegung dieses Hin- und Herschwanken hervorrufen, so daß sie also nur dann eine bestimmte Richtung ungefähr einhalten können, wenn noch ein anderes orientierendes Hilfsmittel, z. B. der Lichtreiz, hinzukommt. Vermutlich haben übrigens jene beiden Forscher auch nur in diesem vagen Sinne von einer Steuerung gesprochen.

Zusammenfassung.

Pyrodinium n. g. Körpergestalt annähernd kugelig, ähnlich wie bei Peridinium. Die vordere Schale ist ungefähr so groß wie die hintere, läuft aber in einen kurzen Apex aus. Beide Schalen werden durch ein schmales Gürtelband zusammengehalten, das ungefähr im Äquator eine niedrige, linksgedrehte Spiraltour beschreibt und von zwei flügelförmigen, dünnhäutigen Ringfalten begleitet wird. Drei asymmetrische und ungleich große Apicalplatten (Fig. 5, A, B, C) umschließen den in eine Öffnung auslaufenden Apex; dazu kommt als vierte Apicalplatte die kleine Rautenplatte (rpl), welche nach hinten bis zur Querfurche, nach vorn jedoch nur bis an die Basis des Apex reicht. [Bei der naheverwandten Gattung Diplopsalis sind 4 symmetrische Apicalplatten, bei Peridinium 6 vorhanden.] Es sind 6 ziemlich symmetrisch gruppierte, vordere Zwischenplatten (I—VI) vorhanden [gegen 5 bei Diplopsalis und 7 bei Peridinium]. Am hinteren Pole sitzt ein großer Stachel, und um ihn herum liegen 3 asymmetrische Antapicalplatten, von denen 2 (Fig. 6, A', B') so groß sind, daß sie mit einer Spitze bis zur Querfurche reichen. [Bei Diplopsalis und Peridinium reicht von den drei Antapicalplatten nur eine bis zur Querfurche, und die beiden anderen liegen symmetrisch zu einer sagittalen Naht.] Es sind 5 hintere Zwischenplatten (I'—V') vorhanden.

Die einzige bis jetzt bekannte Art:

Pyrodinium bahamense n. sp., lebt massenweise im Salzwasser des „Fire- oder Waterloo-Lake“ bei Nassau, auf der Bahama-Insel New Providence. Alle Panzerplatten werden durch niedrige Leisten voneinander getrennt. Am Apex ein größerer und meist noch zwei kleinere Stacheln. Zwei Flügelmembranen ziehen zuweilen von diesen Stacheln bis zur vorderen Ringmembran, drei andere Flügelmembranen (Fig. 6 die punktierten Linien) gehen von dem Hinterstachel aus nach vorn und reichen meist bis zur hinteren Ringmembran. Die eine von ihnen bildet zusammen mit einer Falte über der Leiste a eine trichterförmige Höhle zum Schutze der Längsgeißel. Zur Stütze dieser hinteren Flügelmembranen können die kleinen Stacheln α, β, γ, δ, ζ vorhanden sein. Die Querfurche wird von 8 schmalen Tafeln ausgekleidet und beherbergt die bandförmige, mit einem undulierenden Saume versehene Quergeißel, die mit beiden Enden im Protoplasma der Geißelspalte wurzelt. Alle Platten des Panzers tragen zahlreiche, zu Reihen angeordnete Poren. Die durchschnittlichen Dimensionen des Panzers sind: Höhe ohne die Stacheln 50 μ; Breite 48 μ; Höhe des Gürtelbandes 4 μ; Länge des Vorderstachels 4 μ. des Hinterstachels 16 μ. Die wichtigsten Organellen besitzen im Protoplasma eine konstante Lage (Fig. 13): der große hufeisenförmige Kern (nu) liegt in der Äquatorialebene, die band- oder stäbchenförmigen gelbbraunen Chromatophoren (chr) sind radienförmig in der äußeren Hälfte des Protoplasmas angeordnet, der in seiner Funktion unbekannte, aber konstant vorhandene Nebenkörper (nb) liegt zwischen ihnen am hinteren Zellpol und wird umgeben von zahlreichen Öltröpfchen (st), welche vermutlich die Träger des sehr intensiven Leuchtvermögens sind.

Tafelerklärung.

Tafel XIX.

Alle Zeichnungen des Pyrodinium bahamense sind nach Präparaten entworfen worden, die mit Chromosmiumsäure konserviert und in Glyzerin eingebettet worden waren. * = beliebige Vergrößerung der Zeichnung bei 1000facher optischer Vergrößerung (Apochromat 2 mm und Compensations-Ocular 8).

A, B, C Apicalplatten.
I—VI vordere Zwischenplatten.
A', B', C' Antapicalplatten.
I'—V' hintere Zwischenplatten.
α, β, γ, δ, ε, ζ, η Panzerstacheln.
a, b, c . . . . g Leisten des Panzers.
qf Querfurche.
vac Vakuole.

gsp Geißelspalte.
lfl Längsgeißel.
qfl Quergeißel.
nu Kern.
nb Nebenkörper.
chr Chromatophoren.
ft Fetttröpfchen.
st } Öltröpfchen.
öl }

Fig. 1. Ansicht der Bauchseite, so daß die Geißelspalte in der Mitte liegt. Vergr. 800:1.

Fig. 2. Ansicht der Rückenseite. Vergr. 750:1.

Fig. 3. Die Bauchseite ist fast um 90° nach rechts gedreht. Vergr. 750:1.

Fig. 4. Die Bauchseite ist fast um 90° nach links gedreht. Vergr. 750:1.

Fig. 5. Panzer vom Apicalpol aus gesehen. Die punktierten Linien bezeichnen die Lage der vorderen Flügelmembranen. Vergr. 750 : 1.

Fig. 6. Panzer vom Antapicalpol aus gesehen. Die punktierten Linien bezeichnen die Lage der hinteren Flügelmembranen. Vergr. 750 : 1.

Fig. 7.* Geißelspalte und Schutzhöhle der Längsgeißel im optischen Schnitt.

Fig. 8.* Geißelspalte und Querfurche eines durch Druck etwas gesprengten Panzers.

Fig. 9.* Ringmembran von oben gesehen.

Fig. 10.* Struktur des Panzers.

Fig. 11.* Die apicalen Schalenplatten eines leeren Panzers von innen gesehen.

Fig. 12.* Optischer Schnitt durch die Poren der Schalenplatten.

Fig. 13. Optischer Längsschnitt durch die Zelle. Vergr. 750 : 1.

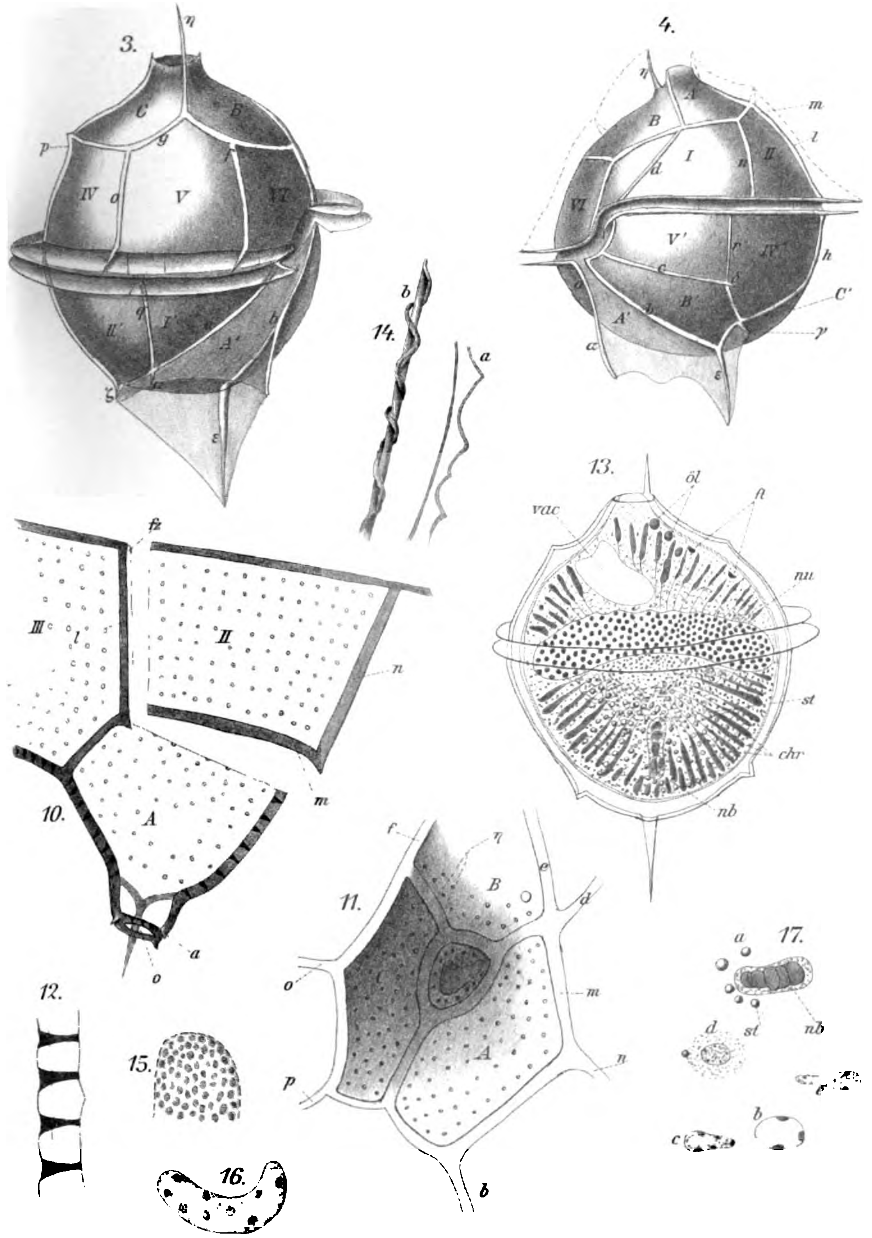
Fig. 14.* Die Quergeißel a im normalen, b im etwas pathologisch veränderten Zustande.

Fig. 15*, 16.* Kernstrukturen.

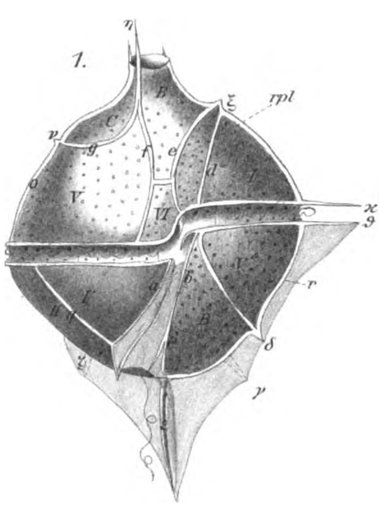
Fig. 17*, a—e. Nebenkörper.

Berlin, 12. Dezember 1905.

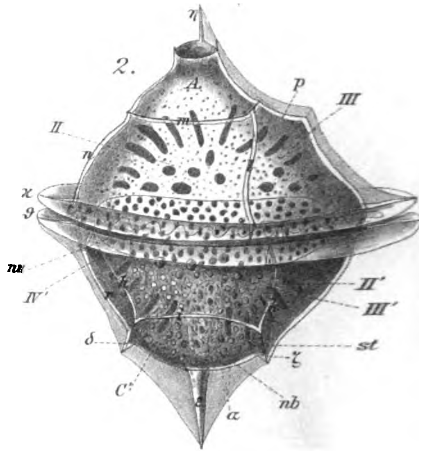
Taf. 19.


3.
η
C
B
p
g
f
IV
o
V
VI
II'
q
I'
b
A'
ζ
ε
4.
η
A
m
B
l
I
n
II
d
VI
V'
r
IV'
h
c
B'
C'
A'
γ
α
ε
14.
b
a
13.
öl
fl
vac
nu
st
chr
nb
fz
III
l
II
n
m
10.
A
a
o
11.
f
η
B
e
d
o
m
A
n
p
b
12.
15.
16.
17.
a
d
st
nb
e
b
c

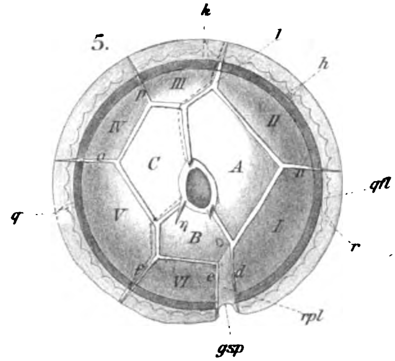
1.


η
B
ζ
rpl
ν
C
g
f
e
d
o
V
VI
I
ϰ
ϑ
I
a
b
B
II
r
δ
ζ
γ

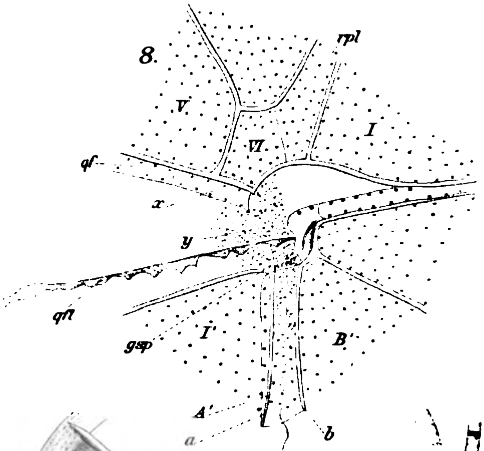
2.


η
A
m
p
III
II
n
ϰ
ϑ
nu
IV'
II'
III'
δ
st
ζ
C'
nb
α

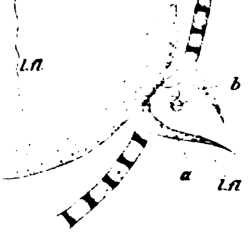
5.


k
l
h
III
p
IV
II
o
C
A
n
qfl
q
V
I
η
B
r
VI
e
d
rpl
gsp

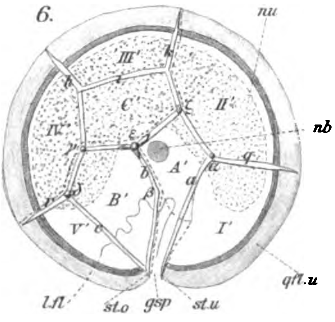
8.


rpl
V
I
VI
qf
x
y
qfl
gsp
I'
B'
A'
a
b

7.


l.fl
b
a
l.fl

6.


nu
III'
II'
C'
IV'
ζ
nb
ε
A'
q
B'
V'
I'
qfl.u
l.fl
st.o
gsp
st.u

9.

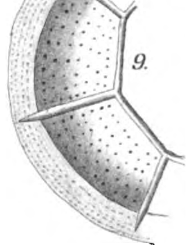


Plate.
1886 Ueber die Conjugation der Infusorien.

⑮

Dr. **Plate**: Ueber die Conjugation der Infusorien.

Nach einigen einleitenden Bemerkungen, in denen der Vortragende hervorhob, dass der für die Encystirung der Infusorien gewöhnlich angenommene Grund, ein Schutzmittel gegen das Austrocknen zu sein, nach neueren Beobachtungen als nicht ausreichend erkannt sei, sondern dass wahrscheinlich der Zweck der Encystirung darin bestehe, den an sich unsterblichen (d. h. stets nur durch mechanische Eingriffe zu Grunde gehenden) Thieren eine Ruheperiode zu gewähren, kam Redner auf sein eigentliches Thema. Die sämmtlichen bis jetzt bekannten Conjugations-Fälle lassen sich in zwei Gruppen sondern, je nachdem es zu einer dauernden oder zu einer nur vorübergehenden Verschmelzung der Parlinge kommt. Ersteres findet ausschliesslich in der Abtheilung der Vorticellinen statt, letzteres bei allen übrigen Infusorien. Redner erläuterte die dauernde Vereinigung jener festsitzenden Ciliaten an den Beispielen der Spirochona gemmipara St., der Lagenophrys ampulla und des Genus Vorticella. Bei der zuerst genannten Species vereinigen sich zwei jugendliche, aber einander völlig gleiche Individuen mit ihrem Kopfende, um schliesslich zu einem einzigen Thiere zu verschmelzen. Ebenso verwachsen die 2 Hauptkerne und die 6 Nebenkerne beider Paarlinge zu einem Hauptkern und 3 Nebenkernen des resultirenden Infusors, nachdem letztere in die Spindelform übergegangen sind. Bei der Lagenophrys und Verwandten werden besondere Conjugationsknospen gebildet, kleine mundlose und nur mit einem Cilienkranz versehene Thierchen, die mit normalen sich vereinigen. Vor der Abschnürung der Knospe zerfällt der Kern in viele glänzende Kugeln, von denen eine oder mehrere in jene übertreten. Eine weitere Complication finden wir bei verschiedenen Vorticellaarten. Hier zerfällt ein Individuum durch „rosettenförmige“ Einschnürungsfurchen in eine grössere Anzahl Knospen, die ebenfalls nur zur Verschmelzung mit gewöhnlichen Thieren bestimmt sind. — Die zahlreichen und äusserst verschiedenen Conjugationserscheinungen der übrigen Infusorien lassen sich in zwei Classen sondern, je nachdem ein deutlicher wechselseitiger Plasmaaustausch constatirt werden kann (Dendrocometes paradoxus St.) oder nicht (z. B. bei Paramaecium aurelia). Zweckmässiger ist es jedoch die Gruppirung nach dem Besitz resp. nach dem Fehlen eines Nebenkerns vorzunehmen. Als Beispiel einer Conjugation bei mangelndem Nebenkern wurde Dendrocometes geschildert, bei dem zwei Individuen sich vorübergehend durch einen Canal verbinden. Der Kern wird zu einem langen Bande und scheint sich im Plasma aufzulösen, um schliesslich wieder als kugelförmiges Gebilde ausgeschieden zu werden. Um zu erläutern, wie complicirt die Conjugation zuweilen verläuft, ging der Vortragende sodann zur Besprechung des Paramäcium aurelia über, bei dem der ganze Process ca. eine Woche dauert, wenn auch die Verbindung zweier Thiere nur 2—3 Tage währt. Besonders interessant ist das Stadium, auf dem jeder Paarling 2 Nebenkernspindeln und einen noch nicht veränderten Hauptkern besitzt. Dorthin, wo die Mundöffnungen der Thiere eng aneinander gepresst liegen, wandert je eine der Spindeln, derart, dass man dieselben mehr oder weniger gekreuzt über einander findet. Keine Spindel tritt jedoch in das Nachbarthier über, sondern es scheint nur ein Diffusionsvorgang zwischen ihnen durch die völlig intacten Cuticulae hindurch vor sich zu gehen. Hierfür spricht auch der helle, körnerfreie Plasmahof, welcher jede Spindel umgibt. Nach ca. 2—3 Stunden rücken die Spindeln wieder auseinander, theilen sich alle zwei noch einmal, so dass jeder Paarling 4 aufweist, und wandeln sich schliesslich, nachdem der Hauptkern in zahlreiche Stücke zerfallen ist, in ebensoviel rundliche Gebilde um, die durch einen grossen Nucleolus und durch sehr geringes resp. gar kein Tinctionsvermögen ausgezeichnet sind. Dieselben verwachsen schliesslich mit den Theilstücken des Hauptkernes zu einem neuen Nucleus.

Die Frage nach der Bedeutung der Conjugation konnte vom Vortragenden aus Mangel an Zeit nur flüchtig berührt werden. Er wies auf die Schwierigkeiten hin, welche der Auffassung der Conjugation als eines Geschlechtsactes entgegenstehen: die Conjugationserscheinungen sind im Allgemeinen äusserst selten, können, wenn auch nicht mit Sicherheit, durch plötzliche Veränderung der Lebensbedingungen bewirkt werden; sie spielen sich ferner in einer Mannigfaltigkeit ab, die scharf contrastirt mit der Einheitlichkeit der Befruchtungserscheinungen. Während es bei letzteren ferner nur auf eine Verschmelzung der Kerne ankommt, ist bei der Conjugation eine wechselseitige Beeinflussung durch das Plasma erwiesen. — Wegen der vorgerückten Zeit konnte Redner die von ihm an anderer Stelle*) veröffentlichte Ansicht, nach der die Conjugation ein zwischen Kern und Zellplasma in jedem Paarling bestehendes Missverhältniss in den Kräfteäusserungen beseitigt, nur mit wenigen Worten erwähnen.

An der Discussion betheiligen sich Dr. Buchner, Professor Hertwig, Dr. Schauinsland und Dr. Pauli.

Dr. Buchner weist auf die Analogie zwischen der Encystirung der Infusorien und der Sporenbildung der Bacterien hin; letztere werde durch ungenügende Zufuhr von Nahrung veranlasst.

Professor Hertwig vertheidigt die Ansicht, dass die Conjugation der Infusorien mit der geschlechtlichen Fortpflanzung in Beziehung zu bringen sei und betont namentlich, dass sich im Pflanzenreich in ähnlicher Weise eine fortschreitende Ausbildung der sexuellen Differenzirung bei den Conjugationen der Algen erkennen lasse. Wenn es sich bestätigen sollte, dass bei den Paramaecien keine Verschmelzung des Protoplasmas und kein Austausch der Nebenkerne stattfindet, so wäre diese Conjugation mit den Vorgängen bei manchen Würmern zu vergleichen, wo die Vereinigung zweier Thiere (Diplozoon paradoxum) die Reife der Geschlechtsproducte veranlasse.

---

*) Zeitschr. f. w. Zool. 1886. Heft II.

Dr. **Pauli** macht darauf aufmerksam, wie schwierig es sei, durch Beobachtung auszuschliessen, dass kein Austausch der Nebenkerne erfolge.

Dr. **Schauinsland** tritt für die Auffassung des Vortragenden ein, dass die Conjugation der Infusorien nicht als ein Geschlechtsact angesehen werden dürfe.

Schluss der Sitzung 10½ Uhr.

late, L. H.

01

Ueberreicht vom Verfasser.

16

Ueber einen einzelligen Zellparasiten (Chitonicium simplex) aus der Mantelhöhle von Chitonen.

Von

Prof. Dr. **Ludwig H. Plate**
in Berlin.

Mit 1 Tafel.

Abdruck
aus den
Zoologischen Jahrbüchern.
Herausgegeben von Professor Dr. J. W. Spengel in Giessen.
Supplement V:
Dr. L. Plate, Fauna Chilensis. Zweiter Band. Heft 2. 1901.
Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Nachdruck verboten.
Uebersetzungsrecht vorbehalten.

Ueber einen einzelligen Zellparasiten (Chitonicium simplex) aus der Mantelhöhle von Chitonen.

Von

Prof. Dr. **Ludwig H. Plate,** Berlin.

Hierzu Tafel 17.

Unter dem Namen *Chitonicium simplex* habe ich früher[1]) einen einfachen Zellparasiten kurz beschrieben, den ich massenweise in der Mantelhöhle von *Ischnochiton imitator* Smith antraf und der ausgedehnte Epithelzerstörungen an seinem Wirthe hervorruft. Er soll im Folgenden ausführlich auf Grund erneuter Studien und an der Hand von Abbildungen geschildert werden. Ich habe die betreffenden Gebilde nur an conservirtem Material beobachtet. In der Mantelhöhle der oben erwähnten Art liegen an vielen Stellen dichte Haufen von kleinen runden Zellen (Fig. 1 *ch*), in denen man einen verhältnissmässig sehr grossen Kern wahrnimmt, der sich mit Hämatoxylin intensiv gefärbt hat. Er sieht meist homogen aus und hat einen Durchmesser von 2—4 μ, selten mehr; nur in wenigen Fällen hat er einen hellern Inhalt mit einem oder einigen wenigen Nucleolen (Fig. 3, 8). Ganz selten liess sich in der homogenen Färbung eine dichte Masse kleinster Chromatinkörnchen (Fig. 6) erkennen, oder es fand sich im Centrum des Kernes eine kleine Vacuole oder ein kleiner stabförmiger Körper, den ich für einen Eiweisskrystall halte

---

[1]) L. Plate, Chitonicium simplex, ein neuer Zellparasit, in: Proc. internat. Congr. Zool. Cambridge 1898, p. 195—196.

(Fig. 4). In der Regel ist die Protoplasmahülle um diesen Kern herum äusserst schmal ($^1/_2$—$1^1/_2$ μ) und zart. Oft erscheint sie wasserklar, so dass man ihre Existenz mehr vermuthet als deutlich wahrnimmt. Stets wird sie nach aussen begrenzt von einer deutlichen Zellmembran. Zuweilen nimmt das Protoplasma an Grösse zu (Fig. 2, 4, 7, 8), so dass der Zelleib $1^1/_2$—3 mal so breit ist wie der Kern. Dann ist der Kern meist von einem wasserklaren Hof umgeben, und das Protoplasma erscheint homogen oder sehr feinkörnig. Obwohl die Mehrzahl der Chitonicien rund ist, findet man doch immer einige, welche länglich-oval oder stabförmig sind (Fig. 1 *ch'*) oder an dem einen Ende sich verschmälern, sonst aber keine Besonderheiten erkennen lassen. In einem solchen Haufen von frei in der Mantelhöhle liegenden Parasiten finden sich ferner eine Menge grösserer Kerne (4—6 μ Durchmesser), welche helle Blasen darstellen und nur peripher an der Wandung Chromatinkörner aufweisen (Fig. 1 *n*). Sie liegen entweder ganz frei da oder sind noch von etwas Protoplasma umgeben. Es sind die Reste von zerstörten Epithelien des Chiton und entstammen der Innenfläche der Mantelhöhle oder den Kiemen.

Das intracelluläre Stadium des Parasiten (Fig. 9—13 *ch*) unterscheidet sich von dem geschilderten freien nur dadurch, dass die Zellmembran undeutlicher ist und oft nur mit Mühe erkannt werden kann. Ich nehme aber nicht an, dass diese Erscheinung durch eine Veränderung der Zellmembran selbst, etwa durch eine Verdünnung derselben, bedingt wird, sondern vermuthe, dass im Innern einer Zelle die Lichtbrechungsverhältnisse etwas andere sind. In einer Epithelzelle liegt meist nur ein *Chitonicium*, selten mehrere. Nach erfolgter Theilung scheinen sie also entweder in eine Nachbarzelle oder nach aussen zu wandern. Längliche Parasiten oder Theilungsstadien werden auch wohl halb in der einen, halb in der andern Zelle angetroffen (Fig. 11 *ch'*). Die Chitonicien liegen in den verschiedensten Regionen der befallenen Zelle, wobei ich es dahingestellt sein lasse, ob sie activ wandern, vielleicht durch amöboide Gestaltänderungen, oder passiv durch das Protoplasma der Wirthszelle umhergetrieben werden. Ich fand sie sogar in hohen Epithelzellen mit basalständigem Kern noch nach innen von dem letztern. Eine stärkere Infection führt regelmässig zu einer vollständigen Zerstörung des Epithels, so dass ich viele Präparate besitze, denen die Epidermis auf grosse Strecken hin in der Mantelhöhle, weniger auf den Kiemen, fehlt. Die gewöhnlichen Epithelzellen (Fig. 10) geben zunächst ihre feste

Verbindung mit den Nachbarzellen auf, nehmen eine unregelmässige Gestalt an und scheinen einen Theil ihres Protoplasmas zu verlieren, denn sie werden kleiner. So findet man dann lockere Plasmaballen, deren Kerne unzweifelhaft darthun, dass sie pathologisch veränderte Epithelzellen sind, und zwischen ihnen einzelne freie Chitonicien oder Gruppen derselben. Häufig bleibt die Cuticula des Epithels noch eine Zeit lang erhalten und begrenzt einen Spaltraum nach aussen, der dicht mit freien Chitonicien und zerstörten Epithelzellen angefüllt ist. Schliesslich zerreisst auch sie, und die in die Mantelhöhle fallenden Zellreste und Parasiten sammeln sich hier zu grössern Haufen an (Fig. 1). Da viele freie Chitonicien zwischen den gelockerten, aber noch ganz oder fast ganz in situ befindlichen Epithelzellen angetroffen werden, so wandern sie offenbar aus den absterbenden Wirthszellen nach aussen. In den Schleimkrausen der Mantelhöhle, von denen *Ischnochiton imitator* eine neurale, eine pedale und eine palliale besitzt, spielen sich die pathologischen Processe in anderer Weise ab, so dass ich hierdurch Anfangs irre geleitet worden bin. In der oben erwähnten vorläufigen Mittheilung beschrieb ich ein „Sichelstadium“ von stab-, sichel- oder keulenförmiger Gestalt, von dem ich annahm, dass es sich durch ruckweise Knickungen nach Art der Sichelkeime der Coccidien bewege. Ich muss diese Angaben jetzt als irrig zurücknehmen, denn es hat sich herausgestellt, dass jene „Sichelstadien“ nur pathologisch modificirte Kerne der Stützzellen der Schleimkrausen sind. In Fig. 12 ist ein Stück inficirten Schleimgewebes dargestellt. Mit *n* sind die normalen Kerne der Schleimzellen, mit *stz* die normalen Kerne der fadenförmigen Stützzellen bezeichnet. Bei *ch* liegen 4 eingedrungene Parasiten, und diese haben bewirkt, dass die Stützzellenkerne in der Nähe des Infectionsheerdes sich in lange schmale intensiv gefärbte und an dem einen Ende häufig verdickte Fäden verwandelt haben (*stz'*). Diese Umwandlung geschieht offenbar dadurch, dass der Kern sich in der Quere verdichtet und dafür länger wird. Bei *stz''* ist ein Kern zu sehen, bei dem das eine Ende noch ungefähr normal ist, während an dem andern sich das Chromatin concentrirt hat. Auf spätern Stadien wandern diese Kerne theils nach aussen, theils schnüren sie sich in ein oder mehrere Stücke durch, was mich früher zu der irrigen Annahme führte, die Sichelkeime gingen aus den gestreckten Formen der Chitonicien hervor und vermöchten sich amitotisch zu vermehren. Aehnliche Absterbeerscheinungen findet man auch bei den Kernen der Schleimzellen, die zu eckigen unregelmässigen Gebilden zusammenschrumpfen (Fig. 12 *sch*) und sich dann ebenfalls intensiv tingiren.

Die Vermehrung des *Chitonicium* ist ausserordentlich einfach und findet bald im freien, bald im intracellulären Stadium statt, ohne dass irgend welche Unterschiede zu bemerken wären. Es macht sich an dem homogenen, intensiv gefärbten Kern zunächst eine schmale, blasse Ringzone, welche ihn mantelförmig einschnürt (Fig. 14), bemerkbar. Die Ringzone wird darauf völlig achromatisch (Fig. 15) und schnürt sich durch, wodurch 2 Kerne resultiren, die zuerst noch eine nahezu ebene Fläche einander zukehren (Fig. 16, 17, 22). In einzelnen Fällen führt diese Amitose zu ungleich grossen Kernen (Fig. 18). Nach der Kerntheilung schnürt sich das Protoplasma durch, wobei eine hantelförmige Gestalt des Zelleibes resultirt. Der Handgriff der Hantel kann zuweilen sich sehr lang ausziehen und einen flachen Bogen beschreiben (Fig. 20). Fig. 11 und 13 lassen erkennen, dass Kern- und Zelltheilung sich gleichzeitig abspielen können, in welchem Falle ein chromatischer Strang beide Theilkerne verbindet. Derartige Bilder lassen sich wohl nur als Theilung, nicht als Conjugation deuten, während die Fig. 14—18 an sich auch als Befruchtungsact aufgefasst werden könnten. Da sie aber relativ häufig sind und andere Vermehrungsprocesse fehlen, so kann die ungeheure Zahl von Parasiten wohl nur in der geschilderten Weise entstanden sein. Ich nehme natürlich an, dass hier wie bei andern Protozoen sexuelle Vorgänge vorhanden sind; aber sie fehlen auf meinen Präparaten. Ein in Theilung begriffener Kern ist 4—6 μ lang.

Diese Parasiten fand ich massenweise bei mehreren Exemplaren von *Ischnochiton imitator* frei in der Mantelhöhle oder in den Epithelien der letztern, einschliesslich der Schleimkrausen, der Kiemen und des Fusses. Die jungen Thierchen, welche bei dieser Art längere Zeit sich in der Mantelhöhle aufhalten, waren auf meinen Präparaten völlig frei von jeder Infection. Ihre Epithelien müssen also wohl zuerst immun sein. Nur einmal fand ich einige Chitonicien nach Zerstörung des Mantelhöhlenepithels dicht nach innen von der Basalmembran im Stroma des Mantels liegen, aber ohne dass pathologische Gewebeänderungen nachweisbar waren. In den Blutlacunen der Kiemenblätter hingegen sind sie öfters anzutreffen, so dass die Möglichkeit vorliegt, dass sie durch den Blutkreislauf in innere Organe gelangen. Eine derartige Beobachtung ist aber noch nicht gemacht worden, und dies spricht sehr dagegen, dass die Chitonicien ausserhalb des Hautepithels pathogen sein können.

Google

Schwache Infectionen mit *Chitonicium simplex* habe ich ferner bei den folgenden chilenischen Chitonen in der Mantelhöhle wahrgenommen: *Chaetopleura peruviana*, *Tonicia fastigiata* und *Chiton cumingsi*. Die Parasiten kommen also bei verschiedenen Gattungen der Polyplacophora vor und werden daher vermuthlich auch in unsern Meeren anzutreffen sein.

Die Frage nach der systematischen Stellung des *Chitonicium* kann zur Zeit wohl kaum gelöst werden; vergeht doch kaum ein Monat, ohne dass nicht dieser oder jener aberrante Zellparasit beschrieben wird. Eine Zugehörigkeit zu den Sporozoen ist gegenwärtig noch ausgeschlossen, so lange Vieltheilungen noch nicht beobachtet worden sind. Da eine Vermehrung durch amitotische Theilung auf dem intra- und extracellulären Stadium constatirt wurde, so ist es auch nicht gerade wahrscheinlich, dass noch ein anderer Fortpflanzungsmodus existirt. Dagegen müssen wir wohl annehmen, dass zu gewissen Zeiten Verschmelzungen zwischen je 2 Individuen vorkommen, denn Befruchtungsvorgänge sind bis jetzt schon für so viele Protozoen nachgewiesen worden, dass man sie für alle vermuthen darf.

Da eine Cellulosemembran fehlt, so kann *Chitonicium* nicht als ein Pilz angesehen werden, ebenso wie der Mangel von Chlorophyll oder einem ähnlichen Farbstoff die Zugehörigkeit zu den Algen ausschliesst. Unter dem Namen Aplosporidien haben Mesnil u. Caullery eine Anzahl sehr einfacher Parasiten der Leibeshöhle von Anneliden und Daphnien[1]) beschrieben, die auf dem einzelligen Jugendstadium eine gewisse Aehnlichkeit mit *Chitonicium* besitzen, später aber stets zahlreiche Sporen produciren. Sollten durch spätere Untersuchungen ähnliche Vermehrungsstadien des *Chitonicium* bei Chitonen oder bei andern Wirthsthieren, entdeckt werden, so könnte unser Parasit an diese Gruppe angeschlossen werden. Einstweilen scheint es mir noch verfrüht, ein Urtheil über dessen systematische Stellung zu fällen.

---

[1]) Mesnil, F. et M. Caullery, Sur trois sporozoaires, in: CR. Soc. Biol. Paris, nov. 20, 1897.

Mesnil, F. et E. Marchoux, Sur un sporozoaire nouveau (Coelosporidium), in: CR. Acad. Sc. Paris, août 2, 1897.

Mesnil, F. et M. Caullery, Sur le genre Aplosporidium, in: CR. Soc. Biol. Paris, Oct. 14, 1899.

Figurenerklärung der Tafel 17.

Alle Abbildungen beziehen sich auf *Chitonicium simplex* Plate, und zwar, wenn nicht das Gegentheil bemerkt ist, auf Parasiten aus der Mantelhöhle von *Ischnochiton imitator* Smith. * bedeutet beliebige Vergrösserung.

Fig. 1. Haufen von Parasiten aus der Mantelhöhle mit eingestreuten Resten von zersörten Epithelzellen (*n*). 500/1. Camerabild bei nicht ganz normallangem Tubus.
„ 2.* Kern etwa von $^1/_3$ Zelldurchmesser, homogen, ohne Nucleolen.
„ 3.* „ „ „ $^1/_2$ „ mit 2 Nucleolen.
„ 4.* Protoplasma deutlich entwickelt. Kern von 4 μ Durchmesser.
„ 5.* Kern mit chromatischer Scheidewand. Intracelluläres Stadium.
„ 6.* Parasiten aus dem Kiemenepithel von *Tonicia fastigiata*. Im Kern des einen ein helles Bläschen, in dem des andern zahlreiche, sehr dicht gruppirte Chromatinkörner. Kerndurchmesser 2 μ.
„ 7.* Freies Stadium aus *Tonicia fastigiata*. Zelle mit 7, Kern mit etwas über 2 μ Durchmesser.
„ 8.* Zwei freie Stadien in Glycerin untersucht.
„ 9.* Parasit im Kiemenepithel.
„ 10.* Kiemenepithel theilweise zerstört.
„ 11.* Theilungsstadium intracellulär.
„ 12. Parasiten in der pallialen Schleimkrause, deren Kerne theilweise degenerirt sind. 500/1. Camera.
„ 13. Theilungsstadium aus dem Osphradium. 870/1. Camera.
„ 14—18.* Theilungen auf dem freien Stadium.
„ 19.* Intracelluläre Theilung (6 μ Länge).
„ 20.* Theilungsstadium mit sehr langer Plasmabrücke, intra- und extracellulär beobachtet.
„ 21, 22.* Theilungsstadien aus *Tonicia fastigiata*.

Berlin, den 29. Januar 1901.

Lippert & Co. (G. Pätz'sche Buchdr.), Naumburg a/S.

Google

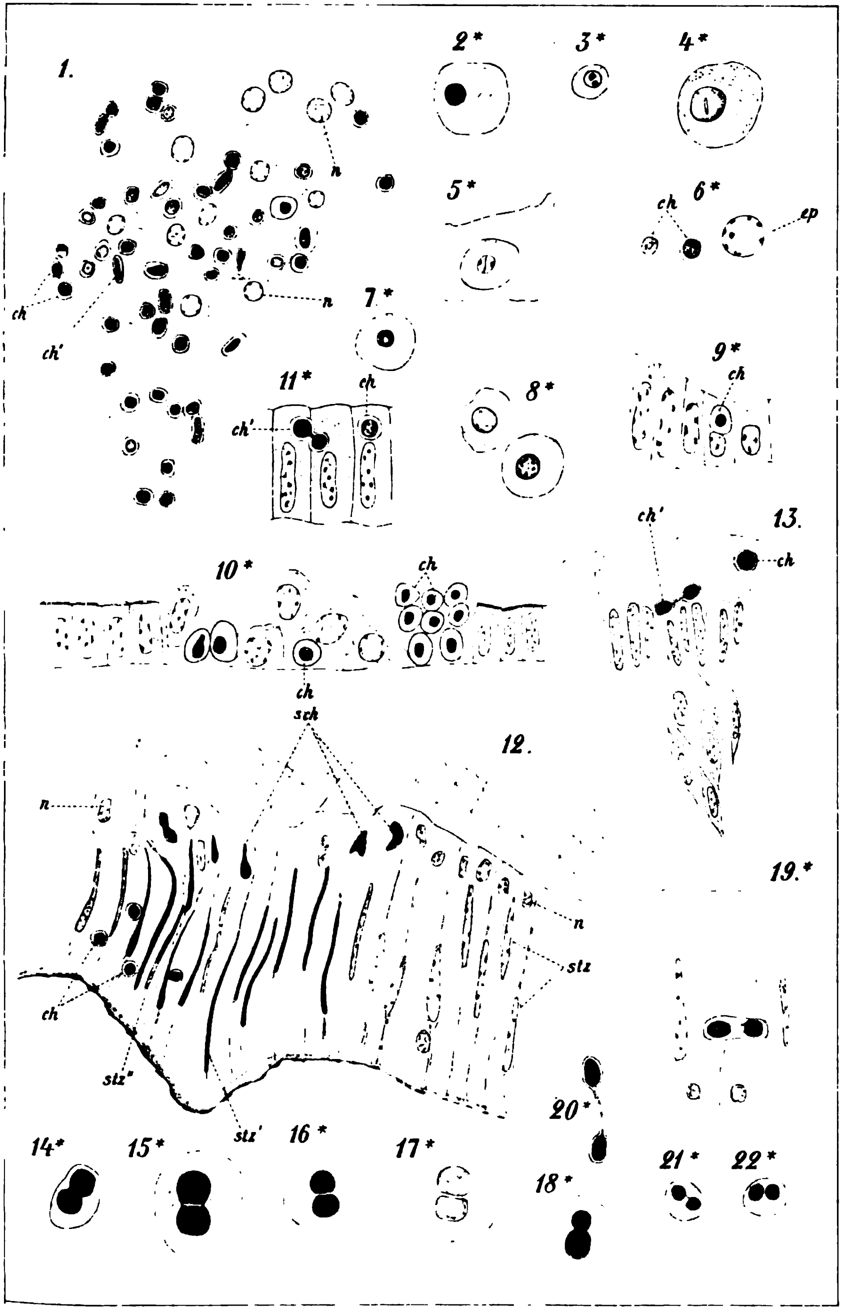


Plate gez. Verl. v Gustav Fischer, Jena. Lith. Anst. v. J. Arndt, Jena.

From the Proceedings of the Linnean Society of New South Wales, 1921, Vol. xlvi., Part 1, 27th April, 1921.

AUSTRALIAN FRESHWATER FLAGELLATES.

By G. I. Playfair.

(Plates i. to ix.; and three Text-figures.)

In the present paper I have endeavoured to give some account of all those forms of microscopic life found in our waters, which are included under the class Flagellatae of the freshwater Algae. From the early days of my studies I have always felt a lively interest in the freshwater flagellates and looked forward to a time when I should be in a position to set forth some small attempt at a monograph of such as occur locally. The following notes therefore, dealing with almost all the commonly occurring species and with a large number of forms, also, which are not at all common, represent the gleanings of 15 years.

The more important part of the work, however, was accomplished during the period when, as a science research scholar of the University of Sydney, I was enabled to devote myself for some years to a more thorough investigation of Australian pond life than I had previously done. It is with pleasure, therefore, that I here express my heartiest gratitude to the Senate of the University for afforded me the opportunities which have resulted in my bringing a long-cherished desire to a successful issue.

In conjunction with these notes should be taken my earlier paper on "The Genus *Trachelomonas*." (These Proceedings, xl., 1915) which was written in advance, on account of the very large number of new forms observed in that genus. The title "Australian Flagellates" may perhaps be considered too grand when it is observed that all the gatherings were made in two localities only, viz.: —the suburbs of Sydney and the neighbourhood of Lismore. This, however, is not so, for the Flagellates are entirely cosmopolitan and the ordinary forms always very wide-spread. In moving from one district to another one merely picks up the same common form over and over again. The rarer varieties, on the other hand, are generally polymorphic forms without any local attachment whatever, but merely the result of unusual combinations of rain and shine, temperature, movement and stagnation in their habitat. It is for this reason that they are uncommon. They are entirely the product of their environment. In a very large number of cases also, they are simply stages of growth which have become fixed at that point either by the induration of the cell-wall or by the lack of any stimulus to further growth.

Given a suitable district the most advantageous course to pursue is to thoroughly exploit its treasures over a term of years, by repeated gatherings from every little pond, roadside puddle, or piece of swampy ground. All the forms marked "Lismore" in this paper were gathered within a circle no more than 2 miles in diameter, and yet after my having thoroughly ransacked this comparatively small area for eight years, two fine specimens, never previously recorded—*Mallomonas litomesa* Stokes and *Trachelomonas splendida,* n.sp.—make their appearance from pools already well searched (March, 1920). Compare my remarks in "New and rare freshwater Algae" (These Proceedings, xliii., 1918, p. 498). *Trachelomonas splendida* was obtained from the pool there referred to.

Mention is here made of 172 forms of flagellate life representing 39 genera; 105 being classed as species, 62 as varieties and 5 forms. Of these, 43 species, 48 varieties and 5 forms (96 in all) are considered to be hitherto undescribed. One genus, *Scintilla,* is proposed as new.

These figures, however, do not include the 104 forms of *Trachelomonas* previously recorded. When these are added, the total number of non-Volvocine Flagellates observed to date, stands at 276. The proportion of new forms may appear rather large, but it should be borne in mind that hardly any work has been done on the freshwater Flagellates of subtropical or tropical countries, and that it is exactly the higher temperatures prevailing there and the greater vicissitudes to which pond life is subjected, that are the cause of the much larger number of varieties to be observed.

The enlargement attached to the figures in the explanation of the plates is not the magnification used in observation of the living specimens but merely indicates the scale (somewhat reduced) used in drawing the figures for reproduction. Observations were made chiefly with a 1/6 inch holoscopic objective, N.A. .95, and 18 diam. ocular in a tube-length of 6 inches. These were assisted by a 1/12in. homogeneous holoscopic lens.

FLAGELLATAE

Protomastigineae.

Fam. BICOECACEAE.

Genus POTERIODENDRON Stein.

POTERIODENDRON PETIOLATUM Stein (Pl. i., fig. 1).

Lorica long. 17—22, lat. 8—11μ.

Guildford (77); Lismore (260, 290, 298).

Stein, Der Organismus der Infusionsthiere, iii., H.i., T.xi., fig. 8—11; Senn, Flagellata, p. 123, f. 80; Kent, Infusoria, *Stylobryon petiolatum* (*non* Dujardin), Pl. xxiii., fig. 17—30; *Dinobryon petiolatum* Lemm., Gattung *Dinobryon,* p. 519.

The cupule has a slightly everted rim. I have never seen the zooid, but small sprays of the empty cupules occur very sparsely in my gatherings. They are generally faintly rufescent, differing in this from all forms of *Dinobryon,* the petioles inconspicuous and no longer than the cupules, so that the latter appear to be sessile. They may always be distinguished from *Dinobryon* by a minute refringent blob at the base, marking the head of the petiole which is there slightly dilated. Main petiole of a spray noted—55μ long. For *Stylobryon* Fromental (*see* Kent, *l.c.,* Pl. xxiii., fig. 29) the arrangement of the cupules in the figure differs from both *Dinobryon* and *Poteriodendron*. *Dinobryon petiolatum* Duj. (Hist. Natur. des zoophytes Infusoires, p. 322, T.i., fig. 22) has nothing to do with *Poteriodendron,* as the author says "animaux verts."

Var. ABBOTTI (Stokes) mihi. (Pl. i., fig. 2.).

Cupules conical-campanulate, rim not everted, dimensions same as those of the type.

Sydney Water-Supply; Lismore (260, 290).

Syn. *Stylobryon Abbotti* Stokes, Infusoria of the U.S., p. 79, Pl. i., fig. 12; *Dinobryon sertularia* forma, Playf., Plankt. Syd. Water, p. 515, Pl. 57, fig. 5; *D. sertularia* var. *conicum,* Playf., Frw. Alg. Lismore, p. 315; *Cf.* Stein, *l.c.*

Stokes gives a good detailed account of this form and its zooid, but his figure is incorrect, as he says that the cupules are twice as long as the maximum breadth (true also of Stein's and of our own) whereas in fig. 12 the proportions are only 6:5. I find the two forms intermingled in the same spray.

Fam. CRASPEDOMONADACEAE.

Genus SPHAEROECA Lauterborn.

SPHAEROECA VOLVOX Lauterborn.

Coenob. diam. c.15μ; cell. long. circa 5, lat. c. $\frac{3}{4}\mu$. Lismore.

Cf. Senn, *l.c.*, p. 126, f. 84B (after Lauterborn). Very rare, only once noted as a minute coenobium of hyaline cells radiating from a centre as in *Synura.* The cells were so small and the outlines so indistinct that even under a high magnification I was unable to make out the details. Senn gives the dimensions as, cells 8—12μ long, coenobium up to 200μ.

Genus SALPINGOECA Clark.

I do not think that there is anything characteristic of the species in the presence, absence or length of the petiole in this genus. Kent's figures, *l.c.,* Pls. v. and vi. seem to me to show this distinctly. Pl. v., f. 20, makes it quite clear also that the coenobium may simulate *Petiolatum* so that in the absence of the zooid one cannot be distinguished from the other.

SALPINGOECA AMPULLACEA (A. Br.) Stein. (Pl. i., figs. 3, 4).

Cell. long. 10, lat. 4½—6½μ. Lismore (302).

Syn. *Chytridium ampullaceum,* A. Braun, "On Chytridium," T. v., f. 24—27; Stein, *l.c.*, iii., H. i., T. xi., f. 6, 7. Quantities noted on one occasion on *Oedogonium*—rare, however, in my experience. Kent's figures of *S. amphoridium, l.c.,* Pl. v., f. 2, 5, at least, should be considered as representing this species, the long narrow tubular neck being characteristic. A minute peduncle may sometimes be observed and is probably very often present when not noticeable.

Var. CORDATA, n. var. (Pl. i., fig. 5).

Loricae corpore cordiforme nec globoso, inferne acuminato, lateribus levissime arcuatis. Long. 10, lat. 4½—6½μ. Lismore (302). Cum forma typica.

The body of the lorica is more or less heart-shaped, not globose, and runs to a point beneath. Kent describes and figures (*l.c.,* Pl. v., figs. 13—16), species *S. amphora* Kent and *S. urceolata* Kent, of somewhat similar shape, but without the long neck. On *Oedogonium* in quantity, mixed with the type.

SALPINGOECA AMPHORIDIUM Clark.

If I say that I do not know whether I have ever observed the type of this species, it is because Clark's original figures (Ann. Mag. Nat. Hist., Ser. iv., vol. i., 1868, p. 203) are difficult of access, the figures given by various authors all differ among themselves and, though typical forms are distinct enough, it is not always easy to say where *S. amphoridium* ends and *S. ampullacea* begins.

Lately, however, I have obtained good pencil sketches of Clark's type figures. He gives two, which are not in the least alike. The second has never, to my knowledge, been observed or figured since, and as it is far the most common form of *Salpingoeca* in this country, I have adopted it as var. *australica* (*infra*). The other is nearly, but not quite identical with Kent's figures (Infusoria, Pl. v., figs. 3, 4, and 7 only, especially fig. 4)—this, therefore, must be considered as the type. It has an almost exactly globose body, rounded below, somewhat produced and ovate above, but very little narrowed or constricted in the throat, the sides diverging upwards and outwards straight to the wide mouth, rim not everted. There is no distinct tubular neck. Kent's figures are all too narrowly constricted and some verge on *S. ampullacea.*

Var. AUSTRALICA mihi. (Pl. i., fig. 6).

Cellulae minutae, sessiles; inferne rotundatae, superne ovatae, haud vel levissime constrictae, lateribus ad os convergentibus, ore non everto, collo nullo vel haud distincto.

Cell. long. 8—14, lat. 4—6, lat. oris 1—2μ.

Auburn; Guildford; Casino (189); Lismore (254, 260).

Our commonest form; found sessile on *Spirogyra, Hydrodictyon, Oedogonium,* more rarely on *Cyclops* (Entomostraca). The cells are ovate, rounded below, narrowed above, sides converging to the narrow mouth, only very slightly constricted, if at all, therefore with no formation of throat or neck except the very least straightening of the sides below the mouth, rim not turned out. Senn's figure of *S. amphoridium,* Flagellata, p. 128, fig. 85A (*after Francé*), has the same shape of opening as var. *australica,* but below is very strongly inflated, much more so even than in Clark's type. It might stand as var. *Francei.* Butschli's form with flat base, figured by Kent (*l.c.,* Pl. v., fig. 33) should rather, on account of the distinct neck and everted rim, be considered a variation of *S. ampullacea.*

SALPINGOECA STEINII Kent. (Pl. i., fig. 7).

Syn. *S. amphoridium* Stein (*non* Clark), *l.c.,* T. xi. f. 1—5. This form might well have been arranged as a variation of *S. amphoridium.* The lorica has the same characteristic wide mouth and throat but no neck. The body, however, instead of being globular, is drop-shaped with a minute protuberance beneath, acting as a peduncle.

Cell. long. 21; lat. corp. 7, constrict. 2½, oris 5μ.

Fairfield (112). Out of weeds in a creek pool.

SALPINGOECA OBLONGA Stein. (Pl. i., figs. 8, 9).

Cell. long. 11—16; lat. 4½—6, lat. oris 3½; stip. long. 4—5μ.

Guildford (77, 88); Lismore (260).

Cf. Stein, *l.c.,* T. x., fig. iv., 4. Zooid not observed. Stein's figure works out at long. corp. 21, lat. 7½; stip. long. 9μ. Very rare here and position somewhat doubtful—it might be a form of *Poteriodendron*. Out of weeds in a creek pool, along with *Dinobryon* and *Poteriodendron*.

Fam. PHALANSTERIACEAE.

Genus PHALANSTERIUM Cienkowski.

PHALANSTERIUM CONSOCIATUM (Fres.) Cienk. (Text-fig. 1*a*).

Coenob diam. 100—440μ.

Auburn (140, 149); Rookwood; Lismore (308).

Cienkowski, Beitr. z. Kenntn. mikrosk. organismen; Kent, Infusoria, Pl. xii., f. 5—9; Stein, *l.c.*, T. vii., fig. 1, 2. Generally met with in ground gatherings in swampy places. It occurs as irregularly circular or oval cushions with scalloped edges, consisting of a pale yellow or brownish mucus, minutely granular. In optical section at the edges the cushion shows as composed of a series of radiating wedges, each containing two cells near the margin. From above, the structure is irregularly polygonal.

Fam. MONADACEAE.

Genus DENDROMONAS Stein.

DENDROMONAS VIRGARIA Stein. (Text-fig. 2*e*).

Naturg. d. Flagell., H. i., T. vi., fig. 1—5. Very rare, noted only once, from the Richmond River at Lismore (186) as a spray of a large number of living cells, the latter 10 × 8μ, agreeing in shape with those figured by Stein. Differs from *Anthophysa* in having a delicate branched coenobium, each cell being fixed at the end of a separate branch; *cf.* Senn. *l.c.*, p. 133.

Genus ANTHOPHYSA Bory.

ANTHOPHYSA VEGETANS (O. F. Muller) Stein.

Coenob. diam. 24—28; cell. long. 12, lat. 4—6μ.

Auburn; Parramatta; Lismore (253, 260, 263).

Cf. Stein, *l.c.*, T. v., fig. 1—17; Senn, *l.c.*, p. 133, fig. 89c. This organism consists of a cluster of cuneate cells attached to stones or weeds by a very irregular mucous peduncle which gets gradually drawn out thinner and thinner by the movement of the flagellate cells until the cluster breaks away and becomes a free-swimming stellate coenobium. The shape of the cells seems to vary from pyriform to cuneate, generally the latter as far as my observation extends.

Genus CEPHALOTHAMNIUM Stein.

CEPHALOTHAMNIUM CYCLOPUM Stein. (?) (Text-fig. 2*f*.)

Long. corp. 10, lat. 3; long. stip. 10; long. flag. c. 20μ.

Canley Vale (128).

A few single zooids noted on the shell of an entomostracan.

They were hyaline and perhaps represent this species. Of course, each coenobium must begin with a single stipitate or sessile zooid. Cf. *Cephalothamnium caespitosum* Kent and *C. cuneatum* Kent; also *Anthophysa stagnatilis* Stokes, p. 83, Pl. i., f. 16, 17.

Fam. BODONACEAE.

Genus BODO Ehr.

BODO EDAX Klebs. (Pl. i., fig. 10).

Flagellatenstudien, Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. lv., 1892. *Cf.* Senn, *l.c.*, p. 135, f. 90A. Oval, more or less flattened on one side, pointed in front, rounded behind, with two distinct flagella near the anterior end, one at least, if not both, often directed backwards. A large coloured food ball often noticeable towards the hinder end. Contractile vesicle in front.

Long. 15, lat. 10μ. Lismore. Rare.

BODO SALTANS Ehr. (Pl. i., fig. 11).

Cf. Stein, T. ii., Abt. vi., f. 1—7 and Abt. v., f. 15; Kent (*Diplomastix*) Pl. xxiv., f. 11—12; Forbes and Richardson, Biol. Upper Illinois River, Pl. lxxxiii., f. 9 (after Kolkwitz). These authorities all agree in identifying this species with the minute drop-shaped flagellate which is commonly seen under the microscope *pecking* away at any dissolving mass of protoplasm. The body is slightly curved, broadly rounded behind and somewhat pointed in front. Here are attached two, long, distinct flagella which are turned backwards under the animalcule. Occasionally it fastens itself to some rotting organism by its pointed anterior extremity, holding on, no doubt, by the bases of the flagella. *Cf.* Stein, T. ii., Abt. v., f. 12 and f. 15, in which state it has been described as *Colpodella pugnax* Cienkowski.

The figure of *Bodo saltans* given by Senn, *l.c.*, p. 135, fig. 90B, would seem to belong to *Bodo caudatus* (Duj.) Stein, *l.c.*, T. ii., Abt. v., f. 1—14 (*Amphimonas caudata* Duj. *l.c.*, Pl. 7, fig. i.; *Diplomastix caudata* (Duj.) Kent, *l.c.*, Pl. xxiv., f. 1—10; *Heteromita putrina* Stokes, Frw. Infus. U.S., p. 105, Pl. ii., fig. 6, 7.)

Other figures that seem to represent this organism are *Heteromita rostrata* Kent, Pl. xv., fig. 18—28, *H. uncinata* Kent, Pl. xv., fig. 29, and *H. adunca* Meresch. in Kent, Pl. xv., f. 44.

Fam. AMPHIMONADACEAE.

Genus RHIPIDODENDRON Stein.

RHIPIDODENDRON HUXLEYI Kent. (Text-fig. 1*b*).

Not uncommon in bottom samples from swampy pools. The elegant pale yellow fronds of the coenobium attain to about 250μ in length. The animalcules themselves are minute and inconspicuous cells situated at the tips of the branches. *Cf.* Stein, T. iv.

Auburn; Grafton (265); Lismore (254, 308, 316).

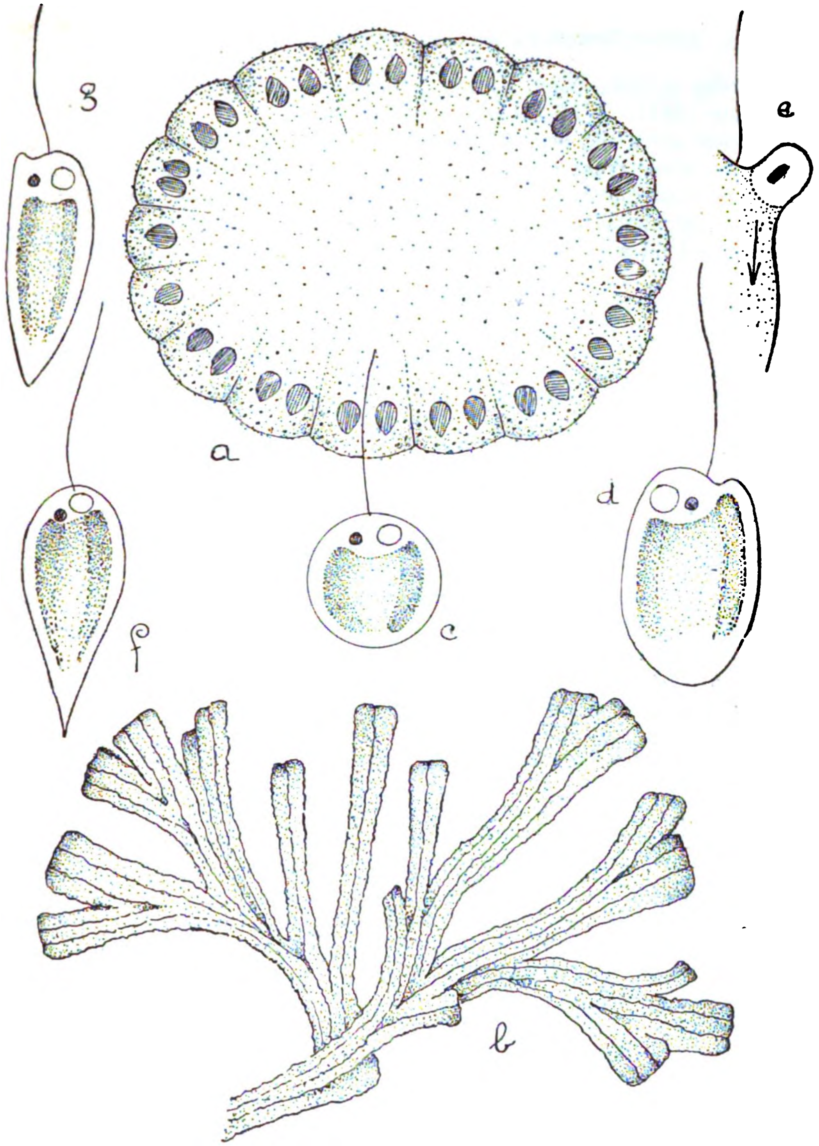
Distomatineae.

Genus TREPOMONAS Dujardin.

TREPOMONAS AGILIS Duj. (Pl. i., fig. 12).

Dujardin, *op. cit.*, p. 294; Senn, p. 149, fig. 103C; Stein, T. iii., Abt. iii., f. 1—14.

Lismore (344). In the water of putrid swamps.



Text-fig. 1.
(a) Phalansterium consociatum (Fres.) Cienk. x 500; *(b) Rhipidodendron Huxleyi* Kent. x 375; *(c) Chromulina ochracea* (Ehr.); *(d) Chr. ovalis* Klebs; *(e) ditto* seizing a *Bacterium*; *(f) Chr. pyriformis*, n.sp.; *(g) Chr. cuneata*, n.sp,; *c–g* x 2000.

Genus HEXAMITA Dujardin.

HEXAMITA INFLATA Duj. (Pl. i., fig. 13).

Dujardin, p. 296; Stein, T. iii., Abt. iv., f. 1—6.

Lismore (344). With the preceding species.

Dujardin gives the length as 17—20μ. What I figure is probably a young form, as the whole front half of the body was homogeneous and transparent, nor did I observe the four anterior flagella which might, however, have been present. The shape was almost quadrangular, rounded and bag-shaped in front, truncate-emarginate behind with distinct angles furnished each with a long flagellum.

Chrysomonadineae.

Fam. CHROMULINACEAE.

Genus CHROMULINA Cienkowski.

CHROMULINA FLAVICANS (Ehr.) (Text-fig. 2 *a*—*d*).

Coenob. diam. 20—60; cell. diam. 8—12μ.

Centennial Park, Sydney.

Syn. *Monas flavicans* Ehr.; *Chrysomonas flavicans* (Ehr.) Stein, *op. cit.* T. xiii., f. 16—19. Very rare, only once observed. Our forms agree perfectly in size and appearance with Stein's excellent figures in Naturg. d. Flagellaten. The dimensions of his figures work out at: coenob. diam. 15—65, cell. diam. 7—10μ. The chromatophores are yellow-green, arranged as in *Synura* and *Mallomonas*. When mature, the cells are globose, but from self-division are generally found more or less oval.

CHROMULINA OCHRACEA (Ehr.) (Text.-fig. 1*c*).

Cellulae sphaericae, diam. 5½—8½μ. Lismore (294).

Minute spherical cells with two yellow-green chromatophores longitudinally and rather irregularly disposed within the cell and not quite parietal. There is a minute stigma and relatively large c.v.

Syn. *Monas ochracea* Ehr.; *Chrysomonas ochracea* (Ehr.) Stein, T. xiv., Abt. iii., f. 1, 2. This and all other forms of *Chromulina* mentioned here were found enmeshed in the mycelium of a fungus surrounding a rotting plant stem floating in swamp waters.

CHROMULINA OVALIS Klebs. (Text-fig. 1*d*, *e*).

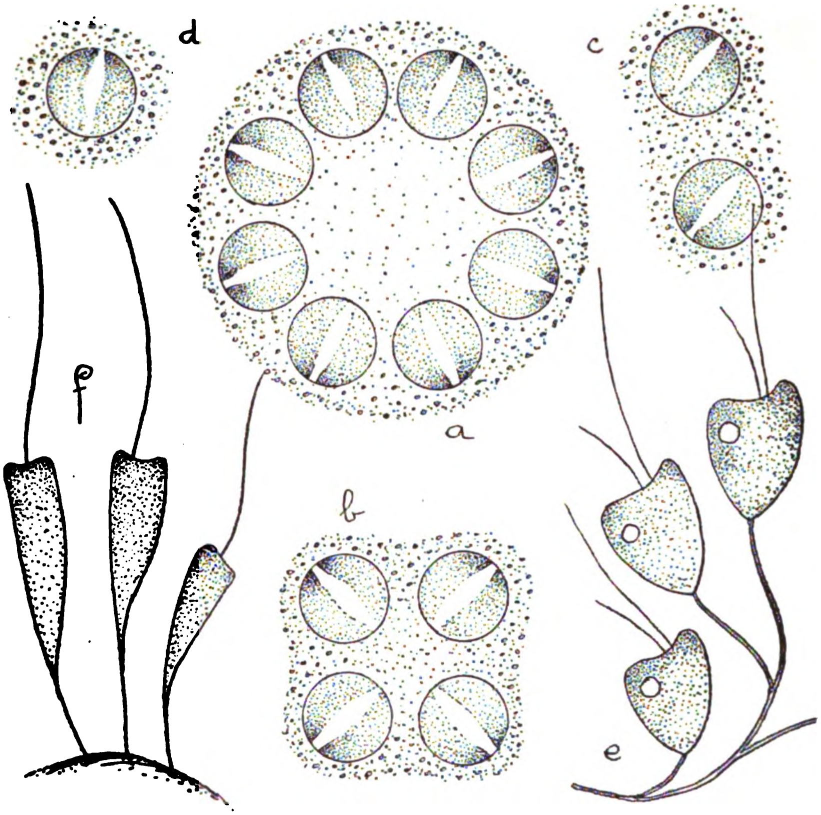
Cell. long. 8½—11½, lat. 5½—7½μ. Lismore (294).

Cf. Senn, *op. cit.*, p. 154, f. 107, B2. Oval or oblong in contour, with a decided nick to one side in front from which the flagellum springs. At this point there seems to be a kind of protrusile or distensible pharynx. I noted one feeding on cells of *Bacterium termo*. These were worked down the flagellum and received with a globule of water (or plasma) which could be observed as a very distinct swelling passing down the side of the cell till it lodged in the posterior part of the cell. Exactly the same procedure is depicted by Senn, p. 119, in the case of *Oicomonas termo* Ehr. which this species of *Chromulina* very much resembles. Is it possible that one is a saprophytic form of the other?

CHROMULINA PYRIFORMIS, n.sp. (Text-fig. 1*f*).

Cellulae plus minus pyriformes, fronte rotundatae, postice acuminatae. Cell. long. 11—12, lat. 5½μ. Lismore (294).

Cells pear-shaped more or less, or ovate, broadly rounded in front, and pointed behind.



Text-fig. 2.
(a–d) Chromulina flavicans (Ehr.) x 900;
(e) Dendromonas virgaria Stein. x 1500;
(f) Cephalothamnium cyclopum Stein, (?) single zooids, x 2000.

CHROMULINA CUNEATA, n.sp. (Text-fig. 1*g*).

Cellulae prae latitudine longiores, cuneatae; fronte subtruncatae, postice acuminatae.

Cell. long. 12, lat. 3½—4μ. Lismore (294).

The cell is long and narrow, somewhat wedge-shaped, subtruncate in front with a notch to one side as in *Chr. ovalis* Klebs, sharp-pointed behind, sides slightly arched.

Genus MALLOMONAS Perty.

MALLOMONAS ACAROIDES Perty. (Pl. ii., figs. 1, 2).

Cell. long. 21—42, lat. 12—23; setae long. 12—30μ.

Auburn; Guildford (84); Parramatta (136); Clyde; Wyrallah; Lismore (261, 287).

Syn. *Mallomonas Plosslei* Perty, *see* Kent, Pl. xxiv., f. 72, 73; *Lepidoton dubium* Seligo. Many forms of this species may be found, as it is very variable in its growth. I have noted subglobose, oval, ovate pointed in front, ovate pointed behind, elliptic; but probably they are all growth forms of one and the same organism. There is evidence to show that *Mallomonas* develops from a small globose cell, and according to its rate of growth, and the line of development that it takes, so is the resulting form. In every species the fully-developed form is linear-elliptic or oblong-elliptic. In *M. acaroides* also the cell may be furnished all over with setae, or some part of the surface may be devoid of them, or again they may be entirely wanting, and occasionally they are so delicate as almost to escape observation. Cells as low down as 14 × 10μ have been noted. Perty's type is really an immature form of the species, and these may generally be recognised by having the c.v. at the hinder end; in the mature form they are set in a circle at the posterior third of the cell. Compare here *M. elegans* Lemm., Schwed. Gewasser, f. 14, and *M. tonsurata* Teiling, Schwed. Plankt., i., fig. 3.

MALLOMONAS SPLENDENS (G. S. West) Playf. (Pl. ii., fig. 3).

Cell. long. 30—56, lat. 9—13; setae long. 16—36μ.

Auburn; Sydney Water (64, 80, 81); Botany (142); Botanic Gardens (3); Wyrallah; Lismore (241, 260, 261, 316).

Syn. *Lagerheimia splendens* G. S. West, Algae Yan Yean Reservoir, p. 74, Pl. 6, f. 4—8. Judging by my records this species is even more common in our waters than *M. acaroides,* and it is generally found in the mature shape, if not always the full size. Indeed, I know of only one young form (*infra*). There may be any number of setae from 2 to 4 before and behind. They differ from the setae of *M. acaroides,* which are like very fine bristles, in being stouter, of a spinous nature and inflated strongly at the base. Those in front are generally carried at right angles to the body, the hinder group project right back; they are capable of a slight amount of lateral movement.

Var. PUSILLA, n.var. (Pl. ii., fig. 4).

Forma multo-brevior, oblongo-ovalis, setis nullis observatis, membrana glabra, striis obliquis 3—4 decussatim dispositis ornata.

Cell. long. 10—17, lat. 8—12½μ.

Sydney Water (80, 81); Centennial Park, Sydney; Byron Bay.

Probably a young form either in process of growth or fixed by incrassation of the cell wall before reaching maturity. It is much shorter than the type though almost as broad as a full-grown specimen. Oblong-oval in shape, membrane smooth, crossed by 3 or 4, very fine, obliquely disposed, criss-cross grooves having the appearance of striae. No setae in the specimens noted.

MALLOMONAS AUSTRALICA, n.sp. (Pl. ii., fig. 5).

Cellulae elliptico-cylindraceae; mediis lateribus fere rectis; apicibus laterotundatis. Membrana hyalina incrassata, granulis parvis in seriebus transversis ordinatis ornata; setis nullis notatis.

Cell. long. 20—25, lat. 10μ.

Botanic Gardens, Sydney (3); Botany; Guildford; Lismore (245).

A much rarer species than either of the foregoing. When mature it is oblong-cylindrical with broadly rounded ends, and crossed transversely but not obliquely by rows of small granules. No setae observed.

Var. GRACILLIMA, n.var. (Pl. ii., fig. 6).

Forma gracillima, magis stricte cylindracea; lateribus fere rectis, apicibus rotundatis. Membrana ut in forma typica; setis nullis.

Cell. long. 22, lat. 4μ. Lismore.

Var. SUBGLOBOSA, n.var. (Pl. ii., figs. 7, 8).

Cellulae subglobosae vel ovales, plerumque fronte paullo angustatae; vesiculis contractilibus 4 juxta extremitatem posteriorem; ceteris ut in forma typica.

Cell. long. 21—27, lat. 16μ. Lismore (316), from swampy ground.

These are probably young growth forms of the type, either still in process of development or, as I think more likely, which have become fixed by the hardening of the cell-wall due to stagnation. On either view they give us a glimpse of the life-history of the organism.

MALLOMONAS LITOMESA Stokes. (Pl. ii., fig. 9).

Cell. long. c. 25, lat. c. 5μ. Lismore.

Stokes, Freshwater Infusoria of the U.S., Journal Trenton Nat. Hist. Soc., i., 1888, p. 92, Pl. i., f. 32.

Very rare indeed, only once observed. The body is linear-elliptic, membrane delicate and smooth (Stokes says however "Cuticular surface finely crenulate"), a few straight setae at the hinder end, but those in front are characteristic, being six in number springing from a small membraneous projection and curved back like the ribs of an umbrella. Chromatophores pale yellow-green, close to the cell-wall.

Var. CURTA, n.var. (Pl. ii., fig. 10).

Cellulae curtae, oblongae; pone late rotundatae sine setis; ceteris ut in forma typica.

Lismore, with the type.

This form is very short, oblong, broadly rounded behind where the setae are wanting; otherwise like the type. Size not noted. A narrower and more strictly cylindrical form, much less commonly met with. Sometimes at the anterior end there is a slight membraneous bi-papillate projection, and below the flagellum, just between the ends of the chromatophores, a dark granule may occasionally be distinguished. I have noticed the same in *Synura granulosa, cf.* New and rare freshwater Algae, p. 508, Pl. lvi., f. 1—3.

Fam. PHAEOCAPSACEAE.

Genus PHAEOCOCCUS Borzi.

PHAEOCOCCUS PLANKTONICUS W. and G.S. West. (Pl. ii., fig. 11).

Coenob. diam. 90; Cell. diam. 10μ. Botany.

Obtained once only in a ground gathering of mixed microscopic life from Gardener's Road swamps, Botany. It was in the *gloeocystis* condition as a hyaline, structureless, mucilaginous coenobium containing 4 families of about 8 cells each. The cells were globose, with two yellow-brown parietal chromatophores disposed as in *Synura* or *Mallomonas*. Senn has no place for this genus in his "Flagellata"; I include it here from some resemblance to *Phaeocystis*, at least in its vegetative condition.

Fam. SCINTILLACEAE.

Genus SCINTILLA, n.gen.

Cellulae minutae, delicatissime, ovatae vel ovales; membrana tenuissima, glabra, hyalina, granulis nullis nec setis; chromatophoris 2 parietalibus per longitudinem dispositis; flagellis 2 tenuissimis; vesiculis contractilibus 2 postice instructae; stigmate nullo.

SCINTILLA CHLORINA, n.sp. (Pl. ii., figs. 12—14).

Cellulae ovatae subcuneatae, fronte angustiores, postice late-rotundatae; polo anteriori modice deplanatae et saepe levissime emarginatae; membrana delicatissima hyalina glabra; flagellis 2 tenuissimus; chromatophoris 2 luteo-viridibus; stigmate nullo.

Cell. long. 7½—21; lat. 4½—12½μ. Byron Bay (324).

A very rare flagellate which I obtained in some quantity from the drained bog at Byron Bay soon after rain. In shape the cell varies from ovate to subcuneate, narrower in front, well rounded behind, sides often somewhat flattened towards the anterior end, which is subtruncate and slightly emarginate. Membrane very delicate and indistinguishable, smooth, hyaline, without markings or setae; flagella two. The cell contents are arranged as in *Synura* or *Mallomonas* with two, thin, yellow-green, parietal chromatophores disposed longtitudinally, starting in front and gradually developing right back to the hinder end. When the opposite edges of the chromatophores just overlap in the middle there appear to be four longitudinal chromatophores but this is an illusion. The posterior portion of the contents is a clear, transparent, homogeneous mass, generally surrounded by large amylaceous granules; no stigma, but there seem to be two pulsating vacuoles behind. With dilute formalin the cell crumples up at once to a shapeless mass, extruding the contents; this does not occur in *Synura* or *Mallomonas*. It is generally taken to indicate the entire absence of cell-wall, but of this I have my doubts. Cf. *Phaeocystis globosa* Scherffel in Lemmermann (Nord. Plankt., xxi.) Flagellatae, p. 2, f. 6.

SCINTILLA SPLENDIDA, n.sp. (Pl. ii., fig. 15).

Cellulae ovales, polos versus praecipne anteriore modice attenuatae, fronte levissime emarginatae; membrana glabra granulis nullis nec setis; flagellis 2 tenuissimis; stigmate nullo; chromatophoris obscure viridibus.

Cell. long. 31, lat. 19μ. Lismore (347).

This species is half as large again as the foregoing and very different in appearance. It is elliptical-oval, not ovate, but the minute emargination in front may still be noted. The membrane is smooth and hyaline, showing no sign whatever of markings or setae. I examined a specimen with the 1/12th inch homogeneous immersion lens; the internal organisation is exactly as in *Synura* or *Mallomonas,* the anterior third consisting of very finely granular protoplasm, the posterior two-thirds of a globe of clear, transparent, homogeneous material surrounded by large amylaceous granules, the whole being enclosed by two delicate parietal chromatophores. The colour of the latter was very distinct, being neither yellow-green nor chlorophyll-green, nor brownish-green, nor blue-green, but a deep gray-green. Very little reliance, however, can be placed on the colour of the chromatophores in the *Chrysomonadineae* as a study of *Cryptomonas* soon shows. Two very delicate flagella noted, which seems to separate the organism from *Mallomonas;* I was not able to detect the pulsating vesicles, but from 2 to 4 will probably be found towards the hinder end of the cell.

Fam. TESSELLARIACEAE.

Genus TESSELLARIA Playfair.

TESSELLARIA VOLVOCINA Playf.

See description and figures in "Freshwater Algae of the Lismore District" (These Proceedings, 1915, p. 315, Pl. xlv., f. 6, 7, under *Tessella*). Also a further note in "New and rare freshwater Algae" (*ibid.,* 1918, p. 508, Pl. lvi., f. 4). I have nothing to add to these notices except to remark that the organism is not as rare as I thought at first. I have obtained plenty during the last few years.

Fam. HYMENOMONADACEAE.

Genus SYNURA Ehrenberg.

SYNURA VIRESCENS (Bory). (Pl. ii., figs. 16—18).

Coenob. diam. ad. 137; cell. long. 22—24, lat. 7—9μ.

Wyrallah; Lismore (242, 314).

Syn. *Uvella virescens* Bory, Encyclop., 1824 (*teste* Dujardin, p. 301); for figure *see* Kent, Pl. xxii., f. 24—26, but the chromatophores are contracted. In "Freshwater Algae of the Lismore District," p. 314, I recorded this species as *Synura uvella* Ehr. All the authors, however, who have figured the latter, show the cells as clothed with fine setae; cf. Stein, T. xix., Abt. i., f. 1—7; Kent, Pl. xxiii., f. 1, 2; Senn, p. 162, f. 116A; Klebs, Flagellatenstudien (Senn's fig. A2) and others.

This makes it plain that if *S. uvella* is found here it must be very rare, as in twenty-five years I have never seen a specimen of a *Synura* showing setae. This smooth species, *S. virescens* Bory, however, is occasionally met with, though by no means common either. I figure three forms which may all be noted either separately or intermingled in the same coenobium. The membrane is very thin and does not show as a double line; the chromatophores lie close to it. No stigma noted, but I think that one or more minute stigmata may occasionally be found, though rarely, in all forms of *Synura* and *Mallomonas.* Stokes (*op. cit.,* p. 117) records this species from U.S.A.

For descriptions and figures of *S. granulosa* Playf. and its var. *pusilla* Playf. *see* Frw. Alg. Lismore District (These Proceedings, 1915, p. 314, Pl. xlv., f. 3). Also New and rare freshwater Algae (*Ibid.*, 1918, p. 508, Pl. lvi., f. 1—3).

For *Synura australiensis* Playf. *see* These Proceedings, 1915, p. 315, Pl. xlv., f. 4, 5.

Fam. OCHROMONADACEAE.

Genus Ochromonas Wysotski.

OCHROMONAS ASPERA, n.sp. (Pl. i., figs. 14, 15).

Cellulae a fronte subcirculatae anteriore saepe truncatae, posteriore rotundatae, margine granulis aspera; a latere modice compressae, ovatae, anteriore acuminatae; membrana nulla vel tenuissima et indistincta; plasmate granuloso, chromatophoris (2?) luteo-viridibus, obscuris; flagello singulo; vesiculis contractilibus geminatis minutis uno latere juxta marginem anteriorem dispositis; stigmate nullo.

Cell. diam. c. 8—10μ. Byron Bay (324).

A very minute flagellate composed of hyaline plasma studded with amylaceous granules which give a rough appearance to the surface, showing through the cell-wall if any is present as it is not noticeable. In shape the cell is sub-circular in front view, sometimes truncate above, and in side view somewhat compressed and ovate. There is an obscure patch of yellow-green chromatophore near the anterior end, a single flagellum and a pair of minute c.v. at one side near the front margin; no stigma. The animalcule can project outwards a large wave of membrane (?) or clear homogeneous plasma, and seize any particle of food in its vicinity.

OCHROMONAS CYLINDRACEA, n.sp. (Pl. i., fig. 16).

Cellulae cylindraceae, utroque polo rotundatae, in medio interdum paullo constrictae, margine granulis aspera; membrana nulla? vel tenuissima ?; plasmate granuloso; chromatophoris obscuris (2?) luteo-viridibus, juxta marginem anteriorem; flagello singulo; stigmate nullo.

Cell. long. c. 17, lat. 5μ. Byron Bay (324).

Cylindrical in shape, rounded each end, slightly constricted in the middle, other details as in the preceding species. Both forms obtained along with *Scintilla chlorina* from small rainwater pools in the drained bog at Byron Bay.

Genus Dinobryon Ehrenberg.

DINOBRYON SERTULARIA Ehr. (Pl. i., figs. 17—21).

Cell. long. 26—38, lat. max. 9—10, lat. oris 8—10, constrict. 7—8μ. Cyst diam. 14μ.

Botany (2); Botanic Gardens (3); Sydney Water (22); Centennial Park, Sydney (133); Duck Creek, Clyde (74); Guildford (172); Fairfield (83, 143); Canley Vale (111); Wyrallah; Byron Bay; Lismore (332, 345, 307, 316).

Syn. *Dinobryon sertularia* var. *cylindricum* in Plankt. Sydney Water, p. 516, Pl. 57, fig. 6. Our common form answers exactly to Ehrenberg's type, but is apparently somewhat smaller. The usual size of the lorica here is long. 30—35, lat. max. 9, whereas for European specimens Lemmermann gives long. 44, lat. max. 13, lat. oris 13, constr. 10—11μ. Stein's figures work out at an average of long. 46, lat. max. 12μ.

I have met with none longer than 38μ, and Bernard, Protococc. et Desm., p. 209, f. 570, gives 28—35 by 8—10μ for Javanese specimens.

Two shapes are found, (1) with blunt conical lower end, and (2) with the lower end drawn out and pointed; both are common and usually intermingled. The cyst which I have only noted twice is spherical with low broad collar, the membrane faintly and sparsely scrobiculate.

Var. ANGULATUM Seligo. (Pl. i., figs. 22—23).

Cell. long. 32—40, lat. 9, lat. oris 8—9, constrict. 7—8μ.

Fairfield (83, 112, 143).

Cf. Seligo, Uber einig. Flagell. d. Susswasser, p. 6, f. 1. *Syn. D. cylindricum* var. *angulatum* (Seligo) Lemm., Gatt. *Dinobryon,* p. 518, T. 18, f. 24. Lemmermann has arranged this form under *D. cylindricum;* I find it here, however, in company with *D. sertularia* and of similar dimensions. *D. cylindricum* is a much larger form than any of ours, so I think it best to fall back on Seligo's original arrangement. Probably the same form is common to both species.

DINOBRYON CYLINDRICUM var. DIVERGENS (Imhof) Lemm. (Pl. i., figs. 24, 25).

Cell. long. 42—50, lat. max. 8—10. lat. oris 8—10. constrict. 6—7μ.

Sydney Water (63, 64, 90); Centennial Park (133); Canley Vale (111); Fairfield (130).

Syn. *D. sertularia* var. *divergens* in Plankt. Sydney Water, p. 516, Pl. 57, f. 7. Nearly all the specimens I measured were either long. 44μ or long. 50μ.

Var. SCHAUINSLANDII Lemm.

Cell. long. 44—50, lat. max. 9—10μ.

Sydney Water (90); Canley Vale (111).

Syn. *D. sertularia* var.' *Schauinslandii* in Plankt. Sydney Water, p. 516, Pl. 57, f. 8. Found in company with var. *divergens,* of which it is really only a form. Our specimens are so slightly wrinkled as to make separation difficult.

Subgenus EPIPYXIS (Ehr.) Lauterborn.

DINOBRYON UTRICULUS (Ehr.) Klebs. (Pl. i., figs. 26—27).

Cell. long. 20—25, lat. max. 7—8, lat. oris 4—5μ.

Sydney Water (22); Guildford (77).

Syn. *Epipyxis utriculus* Ehr., Infus., p. 123, T. viii., f. 7; Stein, T. xii., f. 6—11; Klebs, Zeitschr. f. Wiss Zool., Bd. 55, p. 414; Lemm., *l.c.,* p. 512, T. xviii., *f.* 1. Our specimens are much shorter than the European; Lemmermann gives long. 30—46, lat. 7—10μ.

Var. TABELLARIAE Lemmermann. (Pl. i., figs. 28, 29).

Lorica c. stip. 23—28, lat. max. 7—9, lat. orif. 4—5μ. Cyst. diam. 14μ.

Fairfield; Guildford (77, 124); Centennial Park, Sydney (133).

Lemmermann, Das Plankton schwedischer Gewasser, p. 119, T. i., f. 19. This pretty little form is not uncommon, growing on diatoms, waterweeds, etc. The cells are generally solitary or two together, rarely in clumps as in the figure. From the comparison of a number of individuals it is easy to see that the petiole is formed out of the cell wall by a gradual falling together of the lower end of the lorica. There seems to be a distinct disc to the footstalk, at least sometimes. The membrane differs from other species of *Dinobryon* in that it is generally somewhat rufescent with a specially dark band across the middle. I have never seen the living animalcule. Lemmermann gives long. 22, lat. max. 8, opening 4—5μ as the dimensions of the lorica.

Cryptomonadineae.

Genus CHILOMONAS Ehrenberg.

CHILOMONAS PARAMECIUM Ehr. (Pl. ii., figs. 19—22).

Found in swamp waters almost everywhere; it seems to me very probable that it is a small saprophytic form of *Cryptomonas;* it has the same series of shapes as *Cryptomonas ovata.*

Cell long. c. 30, lat. c. 10μ.

Genus CRYPTOMONAS Ehrenberg.

CRYPTOMONAS OVATA Ehr. (Pl. ii., fig. 23).

Senn (Flagellata, p. 169) remarks on the variability of the chromatophores in this genus and it is particularly noticeable in this species. I have noted the following colours:—Pale nut-brown, deep nut-brown, brownish-green, greenish-brown, yellow-green, pale chlorophyll green, deep chlorophyll green. Almost always to be found in swamp waters, but never in great quantities.

Cell. long. 25—40, lat. 10—18μ.

CRYPTOMONAS AMPULLA, n.sp. (Pl. ii., fig. 24).

Cellulae quam in *C. ovata* majores, longe ovales, lateribus arcuatis; pone rotundatae, fronte oblique truncatae et infra, uno latere, valde excavatae. Chromatophoris fusco-viridibus.

Cell. long. 50, lat. 23, ap. 10½μ. Lismore (327, 337).

A larger form than *C. ovata* and more nearly oval in shape, rounded behind, sides arched, obliquely truncate in front. Below the lower edge of the truncate portion there is a deep excavation, making the cell appear somewhat irregularly flask-shaped. Chromatophores brownish-green, more green than brown, however. The interior seems to be differently arranged from *C. ovata* also, as there is a wide bag-shaped pharynx, longitudinally striate with rows of minute punctulations. Not common.

CRYPTOMONAS MAXIMA, n.sp. (Pl. ii., fig. 25).

Cellulae maxime, plus minus oblongae, fronte modice attenuatae, postice rotundatae; uno latere aequaliter arcuato, altero juxta apices interdum inflatione instructae; chromatophoris plerumque fusco-viridibus.

Cell. long. 50—70, lat. 22—28μ.

Botany (142); Lismore (261, 327, 337).

Double the size of *C. ovata* and much more irregular in shape. It is oblong in general outline, somewhat narrowed back and front, especially the latter. One side is fairly regularly arched, but the other has often a slight protuberance near each end. The chromatophores are generally brownish-green, but I have noted them pale-green and yellow-green.

CRYPTOMONAS NORDSTEDTII (Hausgirg) Senn. (Pl. ii., fig. 26).

Cell. long. 11—12, lat. 6—7μ. Sydney; Lismore (345, 347).

Syn. *Croomonas Nordstedtii* Hausgirg, whose figure is reproduced by Senn,

p. 169, fig. 123c; the size works out at 9 × 5μ. A minute form not uncommon here, but never before more than a few individuals at a time. The chromatophores are described as blue-green and I have once noted them that tint, but strong and often bright blue is the rule, and turquoise-blue may sometimes be observed. Occasionally what resembles a small pyrenoid is present near the centre of the cell, or two smaller, one above the other.

CRYPTOMONAS GEMMA, n.sp. (Pl. ii., fig. 27).

Cellulae ad *C. ovatam* ambitu valde accedentes, ellipticae, sursum uno latere oblique truncatae; hyalinae pellucidae in medio chromatophoris binis globosis cyaneis instructae.

Cell. long. circa 20μ. Lismore (291).

This is a very curious form which I have met with only once, but it was present in much greater abundance than *Cryptomonas* generally is, four or five being in the field of view at one time. In shape like *C. ovata,* it is perfectly hyaline and pellucid, no internal markings at all being visible except the two chromatophores which were bunched up together in the centre of the cell in the form of two, sharply-defined, bright blue globules. All the specimens were alike. In movement they were very lively; flagellates with blue chromatophores generally are.

CRYPTOMONAS OBLONGA, n.sp. (Pl. ii., fig. 28).

Cellulae minutae oblongae, utroque polo rotundatae, sursum haud truncatae; lateribus parallelis subrectis; chromatophoris dilute aeruginosis 2; stigmate nullo; c.v. subapicali.

Long. 11, lat. 6μ. Lismore.

A minute oblong form with rounded ends, not truncate in front, sides more or less straight. There were two pale blue-green chromatophores and a subapical c.v. but no stigma. A little below the centre what looked like a pyrenoid or elaeoplast. I saw only one flagellum but probably there were two, as the pyrenoid and the colour of the chromatophores indicate *Cryptomonas* and not *Mallomonas.* Non-motile at first, the cell became motile while under observation.

Eugleninae.

Fam. EUGLENACEAE.

Genus EUTREPTIA Perty.

EUTREPTIA VIRIDIS Perty. (Pl. iii., fig. 1).

This is a rare flagellate; I have only met with it in one gathering, where, however, it occurred in good numbers. I am not quite certain whether ours is the same as the European form. It is like *Phacus moniliata* var. *suecica* Lemm. with the body slightly elongated and produced below into a long blunt tail. Daugeard, who figures it (Recherches sur les Eugleniens, p. 103, fig. 24) makes no mention of any granules, whereas our specimens are finely puncto-granulate in spiral lines running obliquely and transversely from left to right. In side view it is elliptic, compressed. Differs from *Phacus* in having no amylaceous plates.

Cell. long. max. 58, caud. 21, lat. corp. 25, apic. 10μ. Botany (95).

Genus CRYPTOGLENA Ehrenberg.

CRYPTOGLENA AUSTRALIS, n.sp. (Pl. v., fig. 18).

Cellulae late-ovatae, posteriore latiores, paene subglobosae, postice vix acuminatae, fronte quam levissime deplanatae. A latere ellipticae.

Cell. long. 13, lat. 10μ. Lismore.

Cryptoglena pigra Ehr., the only species hitherto described, is shield-shaped, triangular, broadest above and very pointed below. Cf. Daugeard, *op. cit.*, p. 139, f. 44; Senn, p. 176, fig. 127B. Our form is very broadly ovate, almost subglobose, widest below, hardly pointed beneath and very slightly flattened above. The usual deep furrow runs down one face. In side view elliptic, slightly pointed below and flattened above. One long flagellum; stigma to one side of the furrow; chloroplasts laminar, a brilliant green. Very rare.

CRYPTOGLENA PHACOIDEA, n.sp. (Pl. v., fig. 19).

Cellulae orbiculares, inferne modice angustatae, utroque polo ob sulci extremitates emarginatae; a latere plano-convexae lenticulares.

Cell. long. 21, lat. 17μ. Lismore (351).

Another very rare form which seems to connect *Cryptoglena* with *Phacus*, for it shows two amylaceous plates, one large and the other small. The general shape in face view is subcircular, a little narrowed below. There is a broad furrow down the centre, the ends of which show as an emargination at each pole. The stigma lies to the left of the furrow as usual and there is the customary single long flagellum. In side view the cell seems to be lenticular, plano-convex, showing gibbous where the furrow runs. I have an idea that this is a juvenile form of *Phacus*, the furrow being eliminated with growth, the last vestiges of it persisting as the overlap of the two wings above, and the slight tail below; also the central longitudinal ridge in *Phacus triqueter*. *Cf.* too *Phacus inflatus* (*infra*).

Genus COLACIUM Stein.

COLACIUM VESICULOSUM (Ehr.) Stein. (Pl. iii., figs. 2, 3).

Cell. veg. long. 9—15, lat. 5—11μ. Motile zooid not noted.

Lismore (291, 307). On *Cyclops, Macrothrix* (*Entomostraca*).

COLACIUM ELONGATUM, n.sp. (Pl. iii., figs. 4—6).

Cellulae vegetativae cylindraceae, fronte conicae, postice rotundatae, apicibus stipite mucosa affixae. Zoosporae angustae cylindraceae, medio modice constrictae, apicibus attenuatis acuminatis; stigmate lineari luteo-fusco subapicali; vesiculis contractilibus 2 subapicalibus; flagello singulo, chloroplastidibus dilute viridibus ellipticis.

Cell. veg. long. 12—23; lat. 5—11μ. Zoosp. long. 15—18, lat. 4μ.

Lismore (291, 294, 316, 327).

The vegetative form of *C. vesiculosum* is shortly ovate, that of *C. elongatum* is more or less cylindrical, rounded behind and conical in front where it is fixed to the host by a short stalk of almost invisible mucus. The host is nearly always *Cyclops, Macrothrix* or some other of the Entomostraca. From 2 to 4 cells are often found in a clump. What seem to be the zooids of this species are cylindrical, constricted in the middle, attenuate, and pointed at each end; chloroplasts pale green, irregularly oval, disposed more towards the hinder end; flagellum single; c.v. two, apical; and a yellow-brown, wick-shaped, subapical stigma. A stigma of this shape and colour is extremely rare among the *Euglenineae,* though not uncommon in *Chlamydomonas* of the *Volvocaceae.*

Genus EUGLENA Ehrenberg.

EUGLENA VIRIDIS Ehr. (Pl. iii., fig. 7).

Of medium size; when young fusiform in shape (cf. fig. 9), but with growth tending to become cylindrical; blunt in front and rapidly attenuated behind where it is drawn out into a minute tail. No flagellum, or only the useless stump of one. Amylaceous granules irregular in shape and size, generally forming a large central mass in front of and behind the nucleus. Membrane smooth but very fine spiral striae can generally be detected with a high power lens on all species of *Euglena.* A few minute digitate chloroplasts are usually visible in the hinder part of the cell, but the usual discoid chloroplasts form with age, principally in the central portion, leaving the ends hyaline. From Daugeard's description and figure (Recherches sur les Eugleniens, p. 43, fig. 1A, D) the young fusiform specimens are characterised by a stellate bundle of digitate chloroplasts radiating from the centre of the cell. The dimensions he assigns are long. 68—80, lat. 14—16μ. This is perhaps more nearly Ehrenberg's type. That which I figure here is the older cylindrical form: long. c. 110, lat. 14μ.

This species develops in the globular vegetative cell in a manner peculiar to itself. Both head and tail are turned in under the body, on the same side, to form a ball. When the mucus in which this globular cell is involved gets sufficiently thin for the creature to get free, it simply unrolls head and tail and straightens itself out.

Var. SANGUINEA (Ehr.).

Euglena sanguinea Ehr. This red form is usually found in company with the type, especially when, as often happens, the organisms form a powdery crust on the surface or on the half-dry bed of a pool. It is probably due to the action of sun and air. Under the microscope the colour will be seen to be due to the gradual conversion of the chloroplasts into orange or brick-red globules of haematochrome (lipochrome). This is known to take place in the *Protococcaceae* also.

Var. PURPUREA, n.var.

A rarer and very striking form. The chlorophyll has become converted into a wine coloured substance disposed to all appearances in fine grains.

EUGLENA SOCIABILIS Daugeard. (Pl. iii., figs. 8, 9).

Very like the young form of *Euglena viridis,* but broader and more clavate in front. It may always be recognised by the digitate chloroplasts regularly disposed from front to back. Amylaceous granules irregular in shape, arranged in a mass before and behind the nucleus and below the chloroplasts. Membrane smooth, finely striate spirally and obliquely from left to right. With or without a flagellum.

Long. 92—95, lat. 21—28μ. Lismore (254, 293, 308, 316, 327).

Cf. Daugeard, *op. cit.,* p. 86, fig. 15; for dimensions he gives 85 × 25μ. This species almost certainly develops into the cylindrical form of *Euglena viridis* mentioned above. It is really the young *aquatic* form, while *E. viridis* type is the *aerial* form, when the organism develops in surface crusts. *Euglena sociabilis* living and growing altogether under water has a characteristic method of development and a series of vegetative stages entirely its own. Yet without a doubt it reaches the same objective.

The vegetative cell is generally involved in a wide and often stratified globe of clear mucus.

EUGLENA AMBLYOPHIS (Ehr.) mihi. (Pl. iii., figs. 10, 11).

Syn. *Amblyophis viridis* Ehr. It has generally been considered that there is nothing in this form to justify Ehrenberg's genus *Amblyophis;* at the same time I cannot agree with those who would make it merely a tail-less form of *Euglena viridis.* For one thing, the disposition of the cell-contents is different. Also the latter is a comparatively small species (the type at any rate), whereas *Euglena amblyophis* is one of the very largest forms. It is strap-shaped, rounded behind and attenuated in front, membrane smooth, finely and spirally striate, body very transparent, no paramylon granules or rods (in this respect also very different from *E. viridis*), no flagellum. Specimens from three localities fairly wide apart are all in agreement.

Long. 200—300, lat. 20—25μ.

Botanic Gardens, Sydney (137); Kyogle (216); Lismore (286).

EUGLENA DESES Ehrenberg. (Pl. iii., figs. 12—14).

This species is narrowly strap-shaped and very plastic, slightly attenuate in front and usually coming abruptly to a sharp point behind, but sometimes very gradually narrowed to a subacute tip; no tail and only a very weak flagellum or none at all. Membrane smooth, striae not noted. In most *Euglenae* the striae are very delicate and need the 1-12th inch homog. immersion lens for their detection. The same is true of the chloroplasts except in certain species of which this is one. Here, on the other hand, they are nearly always very distinct, especially at the sides where they show as little lenticular cushions, and are characteristic of the species. No paramylon granules or rods as a rule.

Long. 100—180, lat. 10—18μ.

Coraki; Wyrallah; Lismore (237, 254, 258, 293, 295, 347).

In a mucous stratum of *Spirulina major* gathered on the river-bank at Coraki, there were numbers of *E. deses* developing out of the vegetative cell, from which (Pl. iii., fig. 14) it was evident that they are formed by direct growth out of the original cell itself.

Var. MINUTA, n.var. (Pl. iii., fig. 15).

Dimensionibus quam in forma typica dimidio minoribus; long. 70, lat. 6μ. Lismore.

Var. GRACILIS, n.var.

Forma gracilior, chloroplastidibus haud distinctis; long. 120, lat. 8μ. Casino.

It seems probable that *E. deses* is the base form from which both *Euglena spirogyra* and *E. acus* are developed. Along with this narrow form was another of similar size and shape, but exhibiting the granulate striae of *E. spirogyra* and at the same time the acutely pointed tail of *E. acus.* Upon another occasion I noted a form with the shape and conspicuous chloroplasts of *E. deses,* but with the series of paramylon rods characteristic of *E. acus,* and with a tail end evidently a compromise between the two species. *Cf.* Daugeard, *op. cit.,* p. 93,

fig. 18, var. *intermedia*, Klebs and p. 94 where he says: "cette variété est charactérisée par la présence au-dessus et au-dessous du noyau de quelques longs bâtonnets de paramylon assez gros." (Pl. iii., fig. 16).

EUGLENA OXYURIS Schmarda. (Pl. iii., fig. 17).

One of the largest species. It is a strap-shaped form, sometimes slightly twisted round the long axis. The spirals and striae (the latter are coarser and more conspicuous than usual) run from *right to left* obliquely downwards, focussing the upper surface. This is unusual, not to say unique, in the genus. From two to four stout paramylon rods in a single series; no flagellum; a short stout spine behind. The chloroplasts are brick-shaped (4μ long) following the lines of the striae. Stigma very large, pale, and indistinctly outlined.

Long. 250—400, lat. 22—46μ. Coogee (4); Botany (91).

Cf. Daugeard, *l.c.*, p. 100, fig. 20, who gives long. 490, lat. 30—40μ, also Stein, T. xx., f. 4, 5 (not f. 6, which is *E. tripteris* Duj.).

A smaller form may also be met with:—long. 156—250, lat. 20—22μ.

Var. HELICOIDEA (Bernard) mihi. (Pl. iii., fig. 18).

So strongly twisted as to show three nearly equal lobes, in other details like the type.

Syn. *Phacus helicoideus* Bernard, Protococc. et Desm., p. 206, Pl. xvi., f. 563.

Long. c. spin. 360—400, lat. 40—60, spin. long. c. 40μ.. Guildford; Kyogle (219); Lismore (237, 260, 271).

Var. GRACILLIMA, n.var. (Pl. iii., fig. 19).

Forma gracilior, minime torta. Long. c. spin. 253, lat. 17, spin. long. 42μ. Lismore.

A very rare slender form. Hardly twisted at all and, curiously enough, in reverse direction to the type, though the striae run the usual way. The paramylon rods in this species are really flattened links, in which the central space has become filled up by gradual thickening of the sides. Its position is still indicated by a faint central line.

EUGLENA TRIPTERIS (Duj.) Klebs. (Pl. iv., fig. 1).

In spite of its great likeness to *Euglena oxyuris* v. *helicoidea*, this is a very distinct form, very much smaller, more common, and one that retains its characteristics remarkably well. It generally has a long flagellum. The only note I have of the twist is that it is from left to right, the opposite of *E. oxyuris*. Compare Dujardin, p. 338, Pl. v., f. 7, whose figure the generally accepted form does not very closely resemble; he gives long. 65—80μ; also Stein, T. xx., f. 6, who considers it a young form of *E. oxyuris*.

Syn. *E. torta* Stokes, *l.c.*, p. 86, Pl. i., f. 20.

Long. 70—150, lat. 10—15μ. Wyrallah; Lismore (237, 254, 258, 286, 293, 310).

EUGLENA SPIROGYRA Ehr. (Pl. iv., fig. 2).

Easily recognized by the characteristic granulate striae which, in this species, are very much in evidence and, as a rule, run obliquely from left to right. The typical form (*cf.* Stein, T. xx., f. 7) seems to be cylindrical, slightly attenuate in front, but rapidly narrowing behind into the short acute tail. Membrane somewhat rufescent giving the specimens a yellow-green colour.

Another form, however, which I have found in great quantity, is broadly strap-shaped, not at all, or very slightly, attenuate in front where it is broadly truncate; behind narrowing rapidly to the short acute tail. The membrane in this form is generally very rufescent, the specimens appearing greeny-brown. I have no figure of this form, though it is very common. On decomposition the skin often splits up into a wisp of longitudinal fibres, the striae, which are then seen to be composed entirely of the granules, showing as minute brick-shaped cylinders set on end side by side.

Long. 160—250, lat. 18—36, long. caud. 25—30μ. Sydney; Wyrallah; Lismore.

Forma. (Pl. iv., fig. 3).

Cylindrical, rounded in front, and attenuate behind into a short tail. An interesting form showing beyond a doubt that the membrane may be at first smooth, the granules developing by degrees. Specimens indeed are often noted in which every second or fourth row of granules is more strongly marked, the intermediate series being of later growth. Paramylon rods link-shaped in this species as in *E. oxyuris.*

Var. ELEGANS, n.var. (Pl. iv., fig. 4).

Forma anguste cylindracea, fronte minime attenuata, postice in caudam brevem acutam producta. Membrana hyalina tenuissima, striis delicatissimis, minute granulatis. Flagello nullo.

Long. 110—136, lat. 8—12, long. caud. 10—16μ. Casino (223); Lismore (293).

A small and very slender cylindrical form, almost truncate in front and rapidly narrowed behind. The membrane clear, delicate and very finely striate with minute puncta-granules. No flagellum and no paramylon rods. On others in the same gathering no granules at all could be detected. Out of mud from the edge of a lagoon.

EUGLENA ACUS Ehr. (Pl. iv., fig. 5).

Fusiform, subrostrate in front, very gradually attenuate behind, where the lines of the body merge uninterruptedly into the long, acutely pointed tail. Generally active, with a long flagellum. Membrane very smooth, no striae visible. A long series of 6—10 paramylon rods is characteristic, though not always present.

Long. 150—210, lat. 10—12½μ. Auburn; Lismore (258, 327).

Cf. Stein, *op. cit.,* T. xx., f. 10—12; Daugeard, *l.c.,* p. 101, f. 22. I doubt whether I have ever seen a typical specimen of this species (as distinct from *E. acutissima* Lemm.). The figures cited are more distinctly fusiform than anything I have met with. Stein's specimens have the appearance of being distorted, and the rostrate tip does not seem correct. Daugeard's figure is better in this respect, but the tail is not nearly long enough to represent our forms. The only difference between this and the succeeding species is the slightly greater breadth and the wealth of paramylon rods. The chloroplasts are often little oblong cushions.

EUGLENA ACUTISSIMA Lemmermann. (Pl. iv., fig. 6).

Lemmermann, Plankt. Schwed. Gewass., p. 122, T. i., f. 27, who gives long. 123, lat. 7, flag. long. 25μ. This is really a slender, more cylindrical form of

E. acus, and is the form commonly found in our waters. I include in it specimens over 100μ long. and up to 8μ in diameter.

Long. 110—150, lat. 7—8μ. Guildford (45, 146); Lismore (237, 241, 258, 259, 260, 295).

Var. PARVA, n.var. (Pl. iv., figs. 7, 8).

Forma brevior. Long. 54—94, lat. 6—8, long. caud. 4—16μ. Lismore (237, 258).

A short form, less than 100μ long, sometimes blunt ended behind.

Var. HYALINA, n.var.

Forma hyalina, chloroplastidibus nullis, nec stigmate.

Long. 150—200, lat. 8—10μ. Rookwood; Guildford; Wyrallah; Lismore.

Euglena acus has also a var. *hyalina* Klebs..

EUGLENA PISCIFORMIS Klebs. (Pl. iv., figs. 9—11).

A small form, but one of the most active and frequently met with. In shape it varies somewhat, but generally it is shortly fusiform, with the likeness to a fish from which it derives its name, subrostrate in front and acutely pointed behind, without a tail. No amylaceous rods or granules. The specimen shown in Pl. iv., f. 11 is more globose in the centre than usual. It has probably just developed out of the globular vegetative cell, the shape of which it still partly retains. The long flagellum enables this form to swim very rapidly. Compare Klebs, Flagellatenstudien, p. 302; Dangeard, *l.c.*, p. 89, f. 16A; the latter gives dimensions long. 30, lat. 6—7μ. It is doubtful, however, if his figure represents the type.

Long. 30—32; lat. 6—12μ. Casino (223); Lismore (221, 237, 258, 260, 263, 295, 327, 344, 348).

EUGLENA TEXTA (Dujardin) Senn. (Pl. iv., fig. 12).

Syn. *Crumenula texta* Dujardin, p. 339, Pl. v., f. 8; *Euglena viridis, pro parte,* Stein, T. xx., f. 26—33; *Trachelomonas torta* Kellicott, in Stokes, Infusoria of U.S., p. 87, Pl. i., f. 24.

The type is oval, somewhat attenuate in front. This species seems to me to be merely the vegetative cell which has increased in size and become motile with hardly any alteration in shape. It has nothing to do with *Lepocinclis ovum;* and *Trachelomonas torta* Kellicott is simply the empty membrane, with the striae of both upper and lower face put in at the same time. This is a plankton form, generally to be found among weeds in deep water. The chloroplasts are disc-shaped, irregularly circular or polygonal, and close together; they are much more distinct than in any other species. Membrane smooth and covered with the usual fine spiral striae, with difficulty visible except on the empty cell. Cytoplasm granular; a large stigma and long flagellum, movement active. Dujardin gives long. 50μ.

Long. 50, lat. 40μ. Lismore (352).

Var. OVATA, n.var. (Pl. iv., fig. 13).

Forma ovata, fronte attenuata, pone rotundata; ceteris ut in forma typica.

Long. 38—50, lat. 25—32μ. Duck Creek, Clyde; Lismore (261, 337, 347, 348).

The most common form here; distinctly ovate, not oval.

Var. OBESA, n.var. (Pl. iv., fig. 14).

Forma fere sphaerica, superne quam levissime producta.

Long. 55, lat. 52μ. Lismore.

A rare form, almost exactly spherical, but produced a little above and notched at the opening of the pharynx.

Var. BULLATA, n.var. (Pl. iv., figs. 15, 16).

Forma subglobosa, sursum in protuberationem conicam producta, pone bullâ latissimâ instructa.

Long. 53—55, lat. 42—46μ. Lismore (328).

This form is globose but more produced above into a distinct conical protuberance, while below it is furnished with a low wide boss.

EUGLENA GUTTULA, n.sp. (Pl. iv., fig. 17).

Euglena minima, fere sphaerica; fronte bulla conica instructa; pone rotundata, interdum quam levissime acuminata; flagello longo; cytoplasmate interdum granulato.

Long. 18—19, lat. 14—17, lat. ap. 2—3μ. Guildford (146); Lismore.

Another free-swimming species, found among weeds in deep water, smaller and rarer than *Euglena texta* and its forms. It is globular, with a conical projection in front. The chloroplast seems to be in a single, thin, parietal, equatorial band; flagellum long, movements lively.

Var. ELONGATA, n.var. (Pl. iv., fig. 18).

Forma modice oblongo-cylindracea, medio paullo constricta, sursum leviter attenuata, fronte rotundata acuminata, postice globosa. Cytoplasmate hyalino; in medio zona chlorophyllacea; flagello longo; vesiculo contractili subapicali; pone macula fusca magna (stigmate?) instructa.

Long. c. 19—22, lat. c. 10μ.

Seems to be an outgrowth of the type. In shape oblong-cylindrical, somewhat constricted in the middle, narrowed in front and conical, running to a point, globose behind. A subapical c.v. noted, and, in the centre of the posterior half of the cell, a large pale-brown spot or globule which might be a stigma, though I have never before seen the stigma in such a position in *Euglena*. As in the type, there is a thin median parietal band of chlorophyll. Flagellum long, movements very active.

EUGLENA VIVIDA, n.sp. (Pl. iv., fig. 19).

Euglena minima, lineari-elliptica, fronte acute-rotundata, postice rapide attenuata et acuminata; cauda nulla; chloroplastidibus parietalibus singulis, utrinque pyrenoidibus magnis singulis; stigmate parvo; flagello longo; granulis amylaceis nullis nec baculis.

Long. 30—32, lat. 7μ. Lismore (293, 347).

A minute but most energetic species, swimming rapidly, turning and twisting at a great rate. *Euglena vivida* is very distinct and clear-cut in appearance, linear elliptic, acutely rounded in front and rapidly narrowed behind into a sharp point, but without a tail; very much more resembling a fish than *Euglena pisciformis*. There is a single parietal laminar chloroplast (or two), with a large distinct pyrenoid on each side at the posterior third. Stigma small; flagellum long; no paramylum rods or granules. Not common, but I have known gatherings where it was plentiful.

EUGLENA PUSILLA, n.sp. (Pl. iv., figs. 20, 21).

Euglena minima, cylindracea, utroque fine attenuata, fronte conica, postice abrupte acuminata, caudâ minimâ instructa; baculis amylaceis singulis maximis.

Long. corp. 26—30, lat. 9—10; long. caud. 3—4μ. Lismore (260).

Another minute species, in shape something like *E. vivida*, but very different in details. The body is cylindrical, narrowed at each end, conical in front and abruptly acuminate behind, where there is a short tail. The chloroplasts seem to be scattered flakes, sometimes connected with an irregular paramylum granule; a single, very large and stout paramylum rod in the centre; flagellum?

Var. LONGA, n.var. (Pl. iv., fig. 22).

Forma pisciformis, uno latere fere recto, altero arcuato, fronte attenuata, pone spinâ praedita, baculis amylaceis binis validis.

Long. c. sp. 74, lat. 16; sp. long. 12μ. Lismore (237, 238).

Another very fish-like form, longer than the type, attenuate in front, furnished with a spine behind, one side nearly straight, the other arched. Two stout paramylum rods present. This variation was plentiful in gathering 238; both it and the type have stout membranes and are not metabolic.

? EUGLENA sp. (Pl. iv., fig. 23).

I have seen but one specimen of the form here figured, but, although I was able to observe all details, I regard it with too much suspicion to name or describe. It is a minute form with a long flagellum, and very vivacious in its movements, as these small forms generally are. Several indications point to the possibility of its being the zooid of *Trachelomonas* escaped from a broken lorica. This is not impossible, but I have no knowledge as to whether *Trachelomonas* will remain active under these conditions. The size and shape are exactly those of *Tr. ampullula* Playf. ("The genus Trachelomonas," p. 16, Pl. ii., f. 6); unfortunately, I have no note on the constitution of its zooid. The huge, square, pale stigma, however, is more general in *Trachelomonas;* the subglobose nucleus *at the hinder end* of the cell I have never observed in *Euglena* before, and it usually points to a loricate animalcule (compare the Rhizopoda); the chlorophyll diffused through the outer layer of cytoplasm is frequent in *Trachelomonas,* but rarely, if ever, found in *Euglena.* Compare *Tr. splendida,* Pl. vii., f. 1.

Genus PHACUS Nitzsch.

PHACUS PLEURONECTES (Muller) Duj. (Pl. v., fig. 1).

Long. corp. 36—56, lat. 27—42; long. caud. 7—14μ.

Auburn (68); Rookwood; Botany (91); Guildford (45, 77); Casino; Wyrallah; Lismore (187, 258, 260, 295).

Dujardin, *op. cit.,* p. 336, Pl. v., f. 5, gives for dimensions, long. 40—45, lat. 22½—30μ, which is a fair average size.

Var. MINUTUS, n.var. (Pl. v., fig. 2).

Quam forma typica dimidio minor. Long. 20—28, lat. 11—22μ.

Botanic Gardens, Sydney (3); Wyrallah; Lismore (260).

Half as large only as the type and much less common.

Var. AUSTRALIS, n.var. (Pl. v., fig. 3).

Forma magis ovalis, duplo major. Long. 90, lat. 53μ. Guildford (114).

Very rare indeed; more regularly oval than the type and about twice the size. In all these forms the chloroplasts are minute parietal discs scattered over the central part of the cell.

PHACUS HISPIDULUS (Eichwald). (Pl. v., fig. 4).

Long. corp. 30, lat. 22; long. caud. 10μ. Lismore (328, 332).

Syn. *Euglena hispidula* Eichwald; *Chloropeltis hispidula* Stein, T. xix., f. 41—44.

Very rare here. It is without the overlap at the apex, but instead is furnished with a small papilla. The membrane is ornate with small teeth, pointing backwards, disposed in longitudinal lines. The tail is straight.

PHACUS MONILATA var. SUECICA Lemmermann. (Pl. v., fig. 5).

Long. corp. 30—34, lat. 23—24, crass. 6; long. caud. 7—8μ.

Casino; Wyrallah; Lismore (241, 258, 350, 351).

Cf. Chloropeltis monilata Stokes, p. 91, Pl. i., f. 30. This species is really a variant of *Phacus hispidulus*, the teeth being replaced by granules as in many forms of *Trachelomonas*. I have not met with the type which is figured by Stokes with granules irregularly disposed. Not uncommon here. Compare Lemmermann (Plankt. Schwed. Gewass. T. i., f. 15) who gives size as 36 × 22½μ.

PHACUS LONGICAUDA (Ehr.) Dujardin. (Pl. v., fig. 6).

Long. corp. 53—90, lat. 40—65; long. caud. 67—90μ.

Botanic Gardens, Sydney (150); Guildford (45); Lismore (258, 295, 347, 350).

Euglena longicauda Ehr. Our specimens have sometimes very long tails. Dujardin only gives 92μ *with the tail.* This is the typical, flat form.

Var. ——— Lemmermann. (Pl. v., fig. 7).

Long. corp. 62—80, lat. 40—54; long. caud. 20—40μ.

Botanic Gardens, Sydney; Wyrallah; Lismore (258, 260, 347).

Syn. *Ph. pleuronectes, pro parte,* in Bernard, Protococc. et Desm., Pl. xvi., f. 561 only. This twisted variety has a much shorter tail than the type. Lemmermann has given it a name, but I cannot lay my hand on the reference.

PHACUS TRIQUETER (Ehr.) Dujardin. (Pl. v., figs. 8—11).

Long. 38—44, lat. 25—32μ. Lismore (348, 350, 351).

Dujardin, *l.c.*, p. 338; Stein, T. xix., f. 55—57. Compare *Cyclanura orbiculata* Stokes, p. 89, Pl. i., f. 27; and *Phacus acuminatus* Stokes, p. 90, Pl. i., f. 28. Rather rare, it may be recognised by the ridge running longitudinally down one face.

PHACUS INFLATUS, n.sp. (Pl. v., figs., 12, 13).

Phacus minimus, ad *Ph. pleuronectem* accedens, quasi autem e lobis inaequalibus binis tumidis exstructis; uno lobo per longitudinem, altero transverse inflato; lobo longiore cauda brevi praedito.

Long. corp. 25—32, lat. 22—23; long. caud. 4—6μ. Lismore (236, 237, 295).

A very small form something after the style of *Phacus pleuronectes,* but as if constructed of two inflated lobes joined down the central line. The lobes are unequal in size and shape, one being longitudinally inflated, the other transversely. A short tail on the longer lobe. Membrane longitudinally striate, a large paramylum plate present, stigma distinct, flagellum long. Very rare, but numerous in certain gatherings.

PHACUS LISMORENSIS, n.sp. (Pl. v., fig. 14).

Phacus magnus, longe-ovatus, uno latere paullo infra apicem levissime excavatus (deinde pharynge oriente ac flagello longo); sursum subacute rotundatus, inferne sensim sensimque attenuatus et in caudam longam acutissimam, oblique dispositam, protractus; membrana per longitudinem striata. A latere, corpore lineari, arcuato; lateribus parallelis; postice caudâ longâ, ad angulo recto deflecta.

Long. corp. 54, lat. 18; long. caud. 40μ. Lismore (260, 344, 348).

A very distinct, well-marked species, known only from Lismore. The body is flat like a leaf, not lenticular; long ovate, rounded above, and gradually narrowed below into a very long sharp-pointed tail set obliquely (in front view). The opening of the pharynx is situated in a little indentation on one side at some distance below the apex. From here also, of course, arises the long flagellum. Membrane longitudinally striate; the chloroplasts small, oblong flakes lying along the striae. From the side, the body is seen to be somewhat arched, the sides parallel and close together, the tail set at right angles.

PHACUS PYRUM (Ehr.) Stein.

Euglena pyrum Ehr. I have never come across the exact European type as figured by Stein, T. xix., f. 51—54, and other authors; but the following forms of it are found here and always retain their distinctive characteristics.

Var. OVATUS, n.var. (Pl. v., fig. 15).

Forma corpore ovato fere ovali, sursum late-rotundata, inferne attenuata, cauda brevi acutissima hyalina praedita.

Long. corp. 19, lat. 13; long. caud. 6μ. Botany (142); Lismore.

The type is somewhat narrowed above and excavated apparently below the apex on one side. Our nearest form is quite rounded above, in shape like a peg-top, slightly attenuated below, where it is furnished with a short hyaline sharp-pointed tail. There are 6 or 7 coarse spiral costae running from left to right.

Var. AUSTRALICUS mihi. (Pl. v., fig. 16).

Forma ad v. *ovatum* accedens sed crassior, et costis pluribus ornata.

Long. corp. 22—32, lat. 18—24, long. caud. 8—10μ. Lismore (197, 242).

Syn. *Lepocinclis Steinii* v. *australica* Playf., Biol. Richmond River, p. 141, Pl. viii., f. 6. A more inflated form of the foregoing, and with more numerous costae which are rounded also, not sharp-edged. End view circular in both forms.

Var. RUDICULA, n.var. (Pl. v., fig. 17).

Forma corpore conico sursum truncato-rotundata, inferne attenuata, lateribus arcuatis; postice cauda brevi praedita. A latere valde compressa, lateribus parallelis. Membrana costis rotundatis 4—7 ornata.

Long. corp. 24—35, lat. 15—26, long. caud. 14—18μ.

Lismore (241, 258, 260, 285, 286).

The type and preceding forms are circular in cross section; this form, on the other hand, is strongly compressed. In shape conical, truncately rounded above, narrowed gradually beneath, and furnished with a short sharp tail. Membrane with 4—7 spiral corrugations wound from left to right.

Genus LEPOCINCLIS Perty.

LEPOCINCLIS OVUM (Ehr.) Lemm. (Text-fig. 3*a*).

Long. 23—30, lat. 17—21, long. caud. 2—10μ.
Guildford; Lismore (242, 299).

Syn. *Euglena ovum* Ehr., *Chloropeltis ovum* Stein. This species is rather rare here, I have only met with a few isolated specimens. In shape the type, according to Stein (T. xix., figs. 45, 46, 49, 50), is broadly oval-oblong with an anterior prominence and a short, pointed, triangular tail, membrane finely striate spirally. Forms found here are not infrequently more oblong than oval, and often lack the anterior prominence, sometimes the tail as well. I might remark that these are *generic* characteristics in *Lepocinclis;* it is no use founding species on their presence or absence.

Var. AUSTRALIS, n.var. (Text-fig. 3 *b, c*).

Forma oblonga, ubique rotundata, anteriore haud producta, postice caudâ obtusa brevi papilliformi, vel longa bacilliformi, instructa. Membrana delicatissime spiraliter striata.

Long. 23—30, lat. 17—21, long. caud. 2—11μ.
Guildford (146); Lismore (328).

A decidedly oblong form, rounded on all sides, with no anterior prominence in the specimens so far noted, furnished behind with a short nipple-shaped tail, or more rarely a long, blunt-ended, rod-like one. Membrane finely striate spirally.

Var. COSTATA, n.var. (Text-fig. 3*d*).

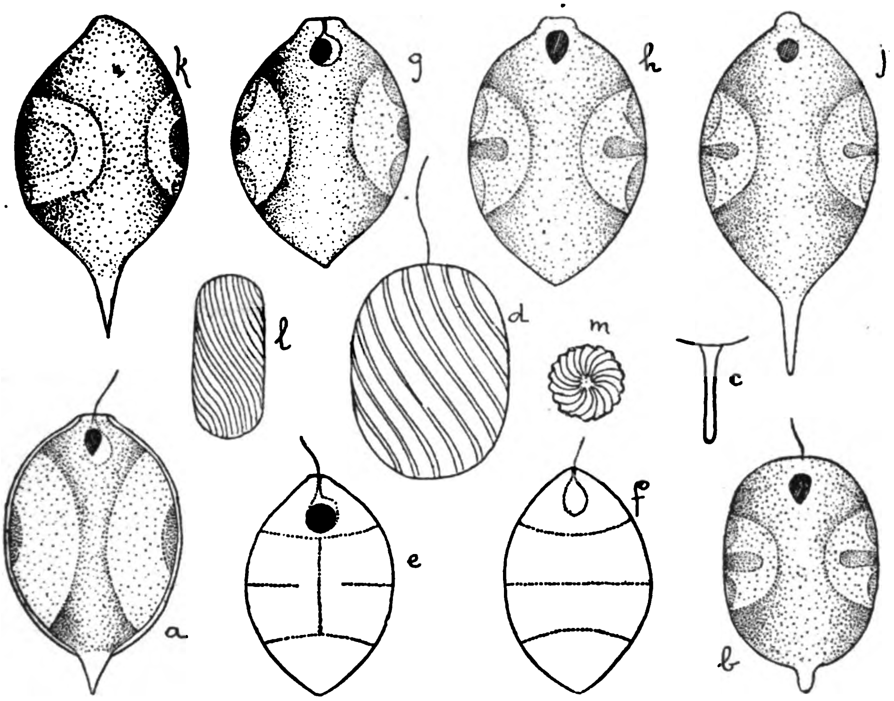
Forma oblonga, ubique rotundata, prominentiâ anteriori nulla nec cauda. Membrana costis spiralibus 9—10 ornata.

Long. 24, lat. 18μ. Guildford (60).

The oblong form, without either anterior prominence or tail, though of course these might be present, either one or both, in other specimens, membrane with 9—10 costae spirally wound.

LEPOCINCLIS FUSIFORMIS (Carter) Lemm. (Text-fig. 3*e*—*h*).

Syn. *Euglena fusiformis* Carter; *Euglena zonalis* Carter, according to Kent, Pl. xx., f. 58 (after Carter). The name is somewhat misleading, as one expects a spindle-shaped cell to be much longer in proportion to its width than this is. The type is broadly lenticular, pointed above and below, apparently without anterior prominence or caudal prolongation of any sort, half as long again as broad in our specimens, but these are not always typical. The figure of *Euglena zonalis* given by Kent works out at 58 × 30μ; it is probably just a slightly more slender form than is typical. Our specimens, while being generally pointed beneath (sometimes even showing a minute papilla or caudal prolongation) are very rarely pointed above, having at least a flattened apex (lat. 3—4μ) and sometimes a slight prominence of the same width. Almost all forms of *Lepocinclis* have a pair of discus-shaped paramylum plates closely appressed to the inner surface of the cell-wall. In this species, by continual deposition of fresh material, these gradually grow round the cell, and meet with a vertical line at each side; the central space of each plate fills up at the same time, till only a horizontal line marks its position, and thus the two plates form a single broad band of paramylum all round the middle of the cell. In front view this band shows as three faint lines simulating the equator and tropics on a geographical globe.



Text-fig. 3.
(a.) Lepocinclis ovum (Ehr.) Lemm. x 1200; *(b.c.) L. ovum* var. ***australis***, n. var. x 1200; *(d.) L. ovum* var. *costata*, n. var. x 1200; *(e.f.) L. fusiformis* (Carter) Lemm. x 560; *(g.h.) ditto*, forma. x 800; *(j.) ditto*, var. *caudata*, n. var., face view. x 800; *(k.) ditto*, another specimen, ¾ face. x 800; *(l.) L. rugulosa*, n.sp. x 800; *(m.) ditto*, end view.

Long. 38—50, lat. 24—35, lat. apic. 3—4μ. Auburn (135); Guildford; Botany (17); Rookwood; Botanic Gardens, Sydney (137); Lismore (233, 236, 241, 295).

Var. CAUDATA, n.var. (Text-fig. 3*j, k*).

Forma magna, inferne caudâ longâ, superne bullâ conicâ vel rectangulari praedita.

Long. corp. 32—43, lat. 21—28; long. caud. 10—16, lat. max. 4μ. Lismore (242, 236, 259, 295).

A rarer variety with a long tail and generally some sort of anterior prominence, conical or rectangular.

LEPOCINCLIS STEINII Lemmermann.

This species has been erected by Lemmermann (Das Plankton schwedischer Gewasser, p. 123, notes) to include Stein's two figures of *Lepocinclis* (*Chloropeltis*) *ovum* (T. xix., f. 47, 48) which are too slender to be typical of that species. Stein, in his explanation of the plates, considers these as representing *Euglena zonalis* Carter, but Kent's figure of the latter (Infusoria, T. xx., f. 58, after Carter) seems to forbid this identification. I do not know this species, which appears to be an oval form, finely striate longitudinally, having some connection with the next form.

Var. SUECICA Lemmermann. (Pl. vi., fig.1).

Long. corp. 26, lat. 11; lat. ap. 3, long. caud. ad 3μ. Casino (189).

Cf. Lemmermann, *l.c.*, p. 123, T. i., f. 20. He gives the size as 24.5—26μ long. and 9.5—12μ broad. According to his figure the membrane is finely striate longitudinally with a slight spiral twist.

(?) LEPOCINCLIS SPHAGNICOLA Lemmermann. (Pl. vi., fig. 2).

Long. corp. 30—32, lat. 12; lat. ap. 3μ. Botany (109); Guildford (114); Lismore (197).

Founded on a form figured by O. Zacharias (Forsch. d. biol. Stat. z. Plon, x., p. 259, T. ii., f. 17) as *L. fusiformis* (Carter) Lemm. I have not seen a figure of this species and therefore am not at all certain about the identification of our specimens. The author (*op. cit.*, p. 124) describes it as oval with collar-shaped, produced anterior end, and distinctly projecting (?) hyaline hinder end, 33μ long and 12μ broad. These dimensions and specifications seem to suit our forms very well.

LEPOCINCLIS CYMBIFORMIS, n.sp. (Pl. vi., figs. 3, 4).

Forma cymbiformis, lateribus nunc deplanatis nunc arcuatis, sursum modice producta truncata, inferne acuminata.

Long. 30—34, lat. 8—11; lat. ap. c. 3μ. Lismore (225).

This species includes certain somewhat irregular boat-shaped forms, sides either flattened or arched; body a little produced above, truncate; acuminate behind. Membrane striate longitudinally?

LEPOCINCLIS CAPITATA, n.sp. (Pl. vi., figs. 5, 6).

Forma anguste fusiformis, superne et inferne paene aequaliter attenuata; anteriore producta truncata, maxime capitata; postice in caudam brevem acutam protracta. Membrana per longitudinem costata, costis c. 6—8 visibilibus.

Long. 45—60, lat. 10—14, lat. ap. 4μ. Botany (92, 142); Botanic Gardens, Sydney (150); Lismore (225, 260, 299).

A very pretty and distinct species characterised by its slender, regularly fusiform body, produced above into a truncately-rounded capitate prominence, and below into a short tail which continues the lines of the body. The membrane is costate longitudinally, 6—8 costae showing.

LEPOCINCLIS COSTATA, n.sp. (Pl. vi., figs. 7, 8).

Forma late-elliptica, fere ovalis; sursum levissime deplanata, haud producta; inferne caudâ brevissimâ triangulari praedita. Membrana costis 8—10 per longitudinem dispositis ornata.

Long. corp. 26, lat. 10—12, lat. ap. 3, long. caud. 3—4μ. Auburn (135); Guildford (146); Wyrallah; Lismore (236, 259, 293).

A broadly elliptical, practically oval form, without any anterior prominence (none observed at any rate), but slightly flattened in front; behind furnished with a very short triangular tail; membrane costate longitudinally, with 8—10 costae visible.

Var. OBESA, n.var. (Pl. vi., fig. 9).

Forma prae longitudinem crassior.

Long. corp. 26, lat. 14—15, lat. ap. 3, long. caud. 3—4μ. Lismore (242, 236, 237).

LEPOCINCLIS PAXILLIFORMIS, n.sp. (Pl. vi., figs. 10, 11).

Forma minima, corpore conico, fronte late rotundata, prominentiâ nullâ; postice attenuata, caudâ minutâ praedita.

Long. 20, lat. 8μ. Guildford (114); Pott's Hill (113).

A small *Lepocinclis*, somewhat conical in general shape, broadly rounded in front, narrowed behind and furnished with a short tail, no anterior prominence noted. A rare species.

LEPOCINCLIS RUGULOSA, n.sp. (Text-fig. 3*l*, *m*).

Forma cylindracea, polis late-rotundatis, lateribus parallelis; membrana striis (vel costis) obliquis spiralibus ornata. A vertice circulata, margine rugulosa.

Long. 25, lat. 15μ. Rookwood.

A small cylindrical form with straight sides and broadly rounded ends. Membrane striate obliquely and spirally either with coarse striae or fine costae. End view circular, the striae showing as about 15 small corrugations on the margin. I am a little doubtful about the genus, as I have no note on the cell-contents. The flagellum figured, however, is Euglenoid and not as in *Sphenomonas*, and the motion "continually revolving" agrees with *Lepocinclis*. Noted in quantity from Rookwood in 1910.

Genus TRACHELOMONAS Ehr.

A detailed account of the principal types of this genus occurring in our waters has already been given in "The Genus Trachelomonas" (These Proceedings, 1915). Here it will only be necessary, therefore, to describe forms noted since then, and to confirm those of rare occurrence by new records.

TRACHELOMONAS VOLVOCINA var. PLANKTONICA, n.var. (Pl. vi., fig. 12).

Forma collo exteriore distincto instructa. A distinct neck round the orifice is very rare in this species. Only noted twice, in both cases from water-supply samples.

Diam. 15; coll. lat. 3, alt. 2μ. Brisbane Water Supply; Sydney Water Supply (115).

Var. SCABRA, n.var. (Pl. vi., fig. 13).

Forma collo brevi; membrana aspera. The membrane is usually very smooth and shiny; in this form it is slightly rough with minute irregularities, not regularly granulate; a short neck present.

Diam. 12μ. Guildford (45).

Var. CORONETTA, n.var. (Pl. vi., fig. 14).

Forma ore membranâ lata circumcincto. A very pretty and distinct form. The lorica does not seem to be always perfectly spherical, but produced above a little. The orifice is surrounded by a delicate and somewhat irregular, membranous collarette which stands out at a wide angle, edges smooth. In one specimen the chloroplasts were very regular, distinct and strongly marked. They were of the usual Euglenoid type, viz., small circular discs, but this is the only occasion on which I have noted this in *Trachelomonas*. In this genus the chlorophyll is arranged in three different ways: (1) apparently regularly diffused through the outer layer of cytoplasm; (2) disposed in a few, large, oval discs, widely separated and often more or less of irregular shape; (3) irregularly reticulated in patches with connecting threads.

Diam. 16, coll. diam. 10μ. Lismore (365).

Var. PUSTULOSA, n.var. (Pl. vi., fig. 15).

Forma plerumque hyalina, collo nullo; membrana pustulis latis pulviniformibus, minute granulatis, vestita.

Diam. 12μ. Sydney; Lismore.

Lorica generally hyaline and covered with broad disc-shaped pustules which are themselves minutely granulate. About 6 pustules across the face.

TRACHELOMONAS BOTANICA var. BOREALIS, n.var. (Pl. vi., fig. 16).

Forma modice oblonga, collo lato divergente praedita; membrana punctata.

Long. 36, lat. 30½; lat. oris 8, papill. 4μ. Lismore (303).

A more oblong form than the type, with a wide dentate collarette round the orifice. The distinguishing mark of this species is the minute papilla at the hinder end. Only known hitherto from Sydney—*antea*, 1915, p. 9, Pl. i., f. 9.

TRACHELOMONAS OVALIS Playfair. (Pl. vi., figs. 17, 18).

Long. 23—35, lat. 19—23μ. Murwillumbah; Lismore (328, 350).

Out of weeds in a surface-water drainage ditch at Murwillumbah in quantity. It is a form rapidly developed where there is a current of water. The lorica is thin, smooth, generally colourless or almost so, and transparent. The figures show the chlorophyll disposed either in regular discs, or irregular reticulations.

TRACHELOMONAS TERES Maskell, forma. (Pl. vi., fig. 19).

Long. corp. 27, lat. 18; coll. lat. 4, alt. 3μ. Lismore (285).

Cf. Maskell, On Freshwater Infusoria, Trans. N.Z. Institute, vol. xx., N.S., 1887. *Tr. teres*, type, is long oval, with a slight collar round the orifice, membrane smooth—the author gives long. 35μ. This form is not quite typical, being more oblong in outline. Four different necks are given which have been noted in this form.

TRACHELOMONAS BULLA var. AUSTRALIS Playf. (Pl. vi., fig. 20).

Long. corp. 40, lat. 23; coll. long. 8, lat. 6μ. Centennial Park, Sydney (133).

Only previously noted from Lismore. This specimen makes our form practically equal in size to Stein's type (50 × 21μ), but the shape is different.

TRACHELOMONAS OBLONGA Lemmermann. (Pl. vi., fig. 21).

Noted both with and without a neck. This is what I take to be Lemmermann's type, but I have not seen the figure.

Long. 17, lat. 12; coll. long. 2½, lat. 1¼μ. Centennial Park (133).

TRACHELOMONAS PULCHERRIMA var. MINOR Playf. (Pl. vi., fig. 22).

Long. 17—19, lat. 10μ. Plenty in the swampy corner of a field in company with *Tr. pusilla* Playf. Lismore (344).

TRACHELOMONAS VOLZII var. SULCATA, n.var. (Pl. vi., fig. 23).

Forma parte anteriore sulcis 10—12 (5—6 visis) per longitudinem dispositis ornata.

Long. 31—32, lat. 21; lat. coll. 3, alt. 1½μ. Botany (108).

A form having the shape of the type, but with 5 or 6 sulcae running down the face as far as the centre. Var. *pellucida* and var. *cylindracea*, previously known from Sydney only, are here recorded from Lismore also (328, 358).

TRACHELOMONAS AMPULLULA var. MAJOR Playf. (Pl. vi., fig. 24).

Forma scrobiculata, lateribus minime angulatis, postice haud mammillata.

Long. 34—36, lat. 17—19; coll. alt. 2—3, lat. 5μ. Lismore (344).

This large form of *Tr. ampullula* is not always retuse and mammillate as previously described (*antea*, 1915, p. 17, Pl. ii., f. 7). In this case also the membrane was coarsely but faintly scrobiculate, and the general outline only very slightly angular.

Var. GRACILIS, n.var. (Pl. vi., fig. 25).

Forma major sed gracilior, lateribus levissime arcuatis, haud angulatis.

Long. 40, lat. 15; coll. alt. 3, lat. 4μ. Guildford (70).

A slender form of var. *major*, with arched, not angular sides, the mammillate end very distinct.

Var. ELLIPTICA, n.var. (Pl. vi., fig. 26).

Forma parva, gracillima, corpore perfecte elliptico, pone acute rotundato, lateribus haud angulatis.

Long. 25½, lat. 10½; coll. alt. 2½, lat. 2½μ. Lismore (350).

A very graceful elliptical form, acutely rounded behind and absolutely without any angularity. Clear pale yellow membrane.

TRACHELOMONAS CLAVATA var. SUBARMATA Playf. (Pl. vi., fig. 27).

Long. 58, lat. 22; coll. alt. 9, lat. 7½μ. Lismore (351).

A very rare and curious species, only known previously from the Botanic Gardens, Sydney, but now recorded from Lismore. The surface of the lorica was reticulate, however, not scrobiculate. I have seen but 3 specimens of this species and only 2 of var. *subarmata;* it is interesting to note that, however bizarre in appearance and rare in occurrence a form may be, it will keep its distinguishing characteristics wherever it is found.

TRACHELOMONAS EURYSTOMA var. PARVA, n.var. (Pl. vi., fig. 28).

Forma quam typicâ dimidio minor, magis rotunda, minime ovata, membrana glabra, striis nullis nec punctis.

Long. 13½, lat. 11; coll. lat. 4μ. Lismore (197).

A small rounded form, about half the size of the type, hardly ovate at all, obtained from weeds in the Richmond River. The membrane is smooth, not striate, and the ring-neck not fluted.

TRACHELOMONAS CORONATA, n.sp. (Pl. vi., figs. 29, 30).

Forma ovalis, vel ovata pone attenuata; superne collo latissimo divergente, margine cuspidato, coronata; inferne caudâ brevissimâ rectangulari bidentata praedita.

Long. 36—38, lat. 20—21; coll. alt. 2—4, lat. 12μ. Lismore (328).

The lorica is oval, or ovate narrowed posteriorly. Above, furnished with a wide outstanding collarette in form of a crown, with a cuspidate margin; below, a very short, square, bidentate tail. Membrane smooth or very slightly roughened.

TRACHELOMONAS SPLENDIDA, n.sp. (Pl. vii., fig. 1).

Lorica magna, elliptica; sursum collo quadrato, ore everso, inferne caudâ brevissimâ subrectangulari; membrana granulata.

Long. corp. 40, lat. 20; coll. alt. 6, lat. 5; caud. long. 6, lat. 1½μ. Lismore (365).

A large handsome species with a long-oval or elliptical body, square neck with everted rim, and short, subrectangular, stubby tail. Membrane dark yellow, granulate. The zooid was alive and active; the chlorophyll seemed to be diffused through the outer layer of the cytoplasm. The latter must have been very translucent, for in spite of the yellow colour and granules of the lorica, the internal organization of the zooid could easily be seen, which is rare in this genus.

This is one of my very latest finds; I thought I had exhausted the possibilities of the district, but the number and variety of types in *Trachelomonas* seem to be infinite.

TRACHELOMONAS HISPIDA (Perty) Stein.

Long. s.sp. 32—50, lat. s.sp. 23—33; spin. long. 4—6μ. Botany (92, 142); Lismore (333).

Of much larger dimensions than the type which is not over 30 × 20μ without spines; and spines only 2μ long.

TRACHELOMONAS BACILLIFERA Playf.

Long. s.sp. 35, lat. 32; spin. long. 2μ. Lismore (347).

Hitherto known only from Sydney; lorica almost spherical and very dark reddish-yellow in colour.

Var. MINIMA Playf. (Pl. vii., fig. 2).

Long. s.sp. 12½, lat. 10½; spin. long. 2μ. Lismore.

Only about half the size of the specimens previously recorded (Genus Trachelomonas, p. 22). It should be noted that in all the forms of *Tr. bacillifera* figured there, the spines are too fine, they should be much coarser, and not so many on the lorica, yet still quite close together.

Var. GLOBULOSA, n.var. (Pl. vii., fig. 3).

Forma sphaerica minuta. Diam. s. spin. 11μ. Brisbane.

A minute spherical form of a pale biscuit colour from the Brisbane water-supply. Such a tint is unusual in this species, all its forms being very dark coloured.

TRACHELOMONAS ARMATA var. GLABRA Playf. (Pl. vii., fig. 4).

Forma corpore ovato subgloboso nec oblongo.

Long. corp. 32, lat. 26μ. Lismore (365).

This specimen is the shape of Ehrenberg's type—ovate subglobose, slightly narrower in front than behind,—quite smooth, however, except for the posterior ring of awns. The chloroplasts and cytoplasm were reticulate.

Var. LONGISPINA Playf.

Long. corp. 42, lat. 32; spin. poster. long. 17, lat. max. 42μ. Lismore.

A fine specimen noted alive. The lorica was hispid with fine short spines (2μ long) and was armed behind with a ring of 10 long awns. Previously recorded only from Sydney and with no more than 4 posterior awns. For figure take that of var. *duplex* (Pl. vii., f. 5) without the subapical ring of awns. This is the first specimen of *Tr. armata* which agreed with Ehrenberg's type in being "hispid."

Var. DUPLEX Playf. (Pl. vii., fig. 5).

Forma spinis brevibus hispida (nec granulata); aculeis anterioribus acutis nec bacillaribus; aculeis posterioribus longissimis.

Long. corp. 45, lat. 35; acul. poster. long. 24μ. Lismore (332, 347, 365).

Var. *duplex* is very rare, as yet only found at Lismore. In this form the lorica is hispid with fine short spines, and not granulate. The awns of the anterior series are acute, not bacillar.

TRACHELOMONAS LISMORENSIS var. MIRABILIS Playf.

Diam. corp. s. spin. 25—26; spin. long. 5—6μ. Lismore (260, 261, 351).

My original description of this form gave only the end view. I can now state that the lorica is globose, differing in this from other forms of the species. Indeed it is doubtful if it should be placed under *Tr. lismorensis,* as the spines are characteristic, stout, conical, very closely set at equal distances apart and not in rows, 7—8 visible in a quadrant of the circumference, the outer half hyaline. (Pl. vii., f. 22).

Var. BISERIATA Playf.

Diam. corp. s.sp. 15; sp. long 3μ. Wyrallah (310); Byron Bay; Lismore (311, 328, 344, 347).

All the varieties of this species are remarkably regular in size and shape. This form is now confirmed from several localities in the district.

TRACHELOMONAS PAUCISPINOSA, n.sp. (Pl. vii., fig. 6).

Lorica subglobosa ubique rotundata; collo nullo; membrana glabra lutea, spinis brevibus validis acutis sparsis armata.

Long. s. spin. 17½, lat. 16; spin. long. c. 2½μ. Lismore (261).

A smooth subglobose or very broadly oval form, armed with short, sharp, stout spines, very wide apart—only 5 or 6 are visible at each side. A very rare species.

TRACHELOMONAS SCABRA var. CORDATA Playf. Forma. (Pl. vii., fig. 7).

Forma magis ovata, inferne magis angustata, membrana fere glabra.
Long. 20, lat. 15μ. Lismore (351).

A more ovate form than that described before and more narrowed below. Membrane only very slightly rough with low scattered thickenings here and there (*antea*, 1915, p. 29, Pl. iv., f. 11).

TRACHELOMONAS ACUMINATA var. AMPHORA Playf. (Pl. vii., fig. 8).

Long. 38, lat. 23; coll. alt. 8, lat. 6; caud. long. 10μ. Lismore (347).

Described originally from Parramatta, now confirmed from Lismore. The zooid was alive and active, the chlorophyll seemed to be diffused.

TRACHELOMONAS URCEOLATA Stokes. (Pl. vii., fig. 9).

Long. 50—57, lat. 23—28; coll. alt. 4—6; caud. long. 10—17μ. Lismore (347, 348, 352).

Merely a single specimen, not too like the type, was previously noted from Parramatta (Sydney), but I have now to record typical specimens alive in some quantity from this district. In most of the tailed forms the zooid is free within the lorica, but occasionally the body is adherent. Such are generally found in plankton gatherings and I would remark that it is not necessary to go for plankton to large bodies of water; the plankton of ponds is usually extremely varied and interesting.

TRACHELOMONAS GIRARDIANA mihi.

Syn. *Tr. urceolata* var. *Girardiana* Playf. (These Proceedings, 1915, p. 32, Pl. v., f. 7, 8). This form is really not in the least like *Tr. urceolata* and always retains its very characteristic appearance so that I think it should stand as a type.

Var. GLABRA, n.var. (Pl. vii., fig. 10).

Long. 36—40, lat. 20—22; coll. alt. 4—6, lat. 6; caud. long. 5—10μ. Lismore (347).

Membrane smooth in these specimens, not scabrous as formerly. At present known only from Lismore.

TRACHELOMONAS ELEGANTISSIMA (G. S. West) Playf.

Arranged, but doubtfully, by G. S. West as (?) *Dinobryon elegantissimum* in Algae of the Yan Yean Reservoir, p. 81, fig. 10K; I placed this species under *Trachelomonas* on account of the resemblance of a similar form to *Tr. napiformis*. The zooid, however, which alone can decide the genus, has not yet been noted; and indeed it is not at all unlikely that it may turn out to be a species of *Salpingoeca* (*antea*, 1915, p. 32, f. 12).

TRACHELOMONAS HESPERIA, n.sp. (Pl. vii., fig. 11).

Forma ad *Tr. elegantissimam* var. *ovatam* valde accendens, sed stipite brevissima; corpore ovato, subgloboso, utrinque rotundato, inferne acuminato, in stipitem brevissimam producto, superne collo rectangulari, ore everso.

Long. corp. 14, lat. 8; coll. alt. 4, lat. 4; stip. long. 2μ. Perth Water Supply, W. Australia.

A good many specimens of this form were found in a sample kindly sent me by the engineer of the Perth (W.A.) Water Supply. It is very like *Tr. elegantissima* var. *ovata* from the Sydney Water Supply, but with a very short stalk. The lorica is ovate, subglobose with rounded sides, narrowed below into a short stipes. Above there is a square neck with everted rim. Membrane smooth, that of the body stout, especially above, pale brown; but, in every case, that of the neck was hyaline and very delicate, evidently a later growth. One specimen noted was entirely hyaline, pellucid and thin-walled like a *Dinobryon*.

TRACHELOMONAS NAPIFORMIS var. BREVICOLLIS, n.var. (Pl. vii., figs. 12—14).

Forma paullo magis ovata, collo breviore, ore valde everso.

Long. 48—53 (corp. 36—38), lat. 24—25; coll. alt. 5—6, lat. 6—11; caud. 10—14μ. Lismore (322, 333, 347).

A more perfectly ovate form of the type with shorter neck and accentuated rim. A new record for this species.

TRACHELOMONAS CUNEATA, n.sp. (Pl. vii., fig. 15).

Lorica trapezoidea, angulis lateralibus fere rectis; inferne cuneata, lateribus planis ad caudam convergentibus; sursum subtriangularis, lateribus convexis in collum sensim sensimque adscendentibus, ore everso; membrana hyalina scabra.

Long. 50, lat. 20; coll. lat. 6; caud. long. 14μ. Lismore (258).

Lorica somewhat trapezoid with lateral angles almost square. Greatest breadth about 1-3rd from the mouth. From the lateral angles downward, cuneate, with flat sides converging to the tail. Above subtriangular, sides convex, gradually rising into the narrowed neck with everted rim; membrane irregularly roughened.

TRACHELOMONAS GIBBEROSA var. LONGICOLLIS, n.var. (Pl. vii., fig. 16).

Lorica corpore multo compresso; collo longissimo, lateribus parallelis.

Long. 54, lat. 26; coll. alt. c. 18, lat. 6; caud. long. c. 24μ. Lismore (258).

An elegant form, with the body of the lorica much compressed antero-posteriorly, and with a very long neck. This form and the previous one are both uncommon; they were plentiful, however, alive in one gathering.

Var. TUMIDA, n.var. (Pl. vii., fig. 17).

Lorica corpore prae longitudinem multo majore; collo vix formato; cauda minutissima.

Long. 53, lat. 39; lat. oris 7; caud. long. 3μ. Lismore.

A form in which the body of the lorica is very large compared with the total length. Above, it is gradually narrowed to the mouth without any distinct neck; tail quite minute. That polymorphism in these and similar organisms is largely a matter of the relative development of component parts, is well exemplified in this species. This form, var. *longicollis*, and the type (long. 53, 54, 56μ respectively) are all about the same size and the characteristic shapes are merely the result of the proportionate growth of the body, neck and tail of the lorica.

TRACHELOMONAS ROTUNDATA mihi. (Pl. vii., fig. 18).

Tr. gibberosa var. *rotundata* Playf., *antea*, 1915, p. 35, (var. *rotunda*, by a slip of the pen, in the explanation of the plates, p. 41).

Long. 40 (corp. 25); lat. 25; coll. alt. 6, lat. 6; caud. long. 9μ. Lismore.

This form retains its shape well and is not at all like *Tr. gibberosa.* I erect it here as a separate type. Specimens a little larger than those from Parramatta; a new record for the species.

TRACHELOMONAS LANCEOLATA, n.sp. (Pl. vii., figs. 19. 20).

Lorica lanceolata, lateribus rotundatis; sursum collo quadrato; inferne sensim sensimque attenuata, acuminata; a latere interdum compressa. Membrana glabra.

Long. 30, lat. 12—13; coll. alt. 4, lat. 5—6μ. Parramatta (136); Lismore (258).

Lanceolate with rounded sides, above converging to the wide square neck, below gradually running down to a point; membrane smooth. The Parramatta specimen was slightly compressed in side view.

TRACHELOMONAS SPIRALIS, n.sp. (Pl. vii., fig. 21).

Lorica elliptica, inferne acuminata, lateribus aequaliter arcuatis, sursum collo, lato, humili instructa. Membrana hyalina glabra, tenuissima, torta; costis spiralibus 3—4 ornatis.

Long. 36, lat. 21; coll. alt. 3, lat. 6μ. Botany (151).

Lorica elliptic, pointed below, sides evenly arched, neck wide and low; membrane very thin, hyaline and with the delicate matt or frosted surface common in this class of *Trachelomonas.* It belongs to the stipitate group, though it has no tail. Three or four ridges run spirally from end to end, the lorica having probably been an adherent form which has got twisted in growth. The tail itself in these forms is due to twisting, as a close examination will often show.

Fam. ASTASIACEAE.

Genus MENOIDIUM Perty.

MENOIDIUM PELLUCIDUM Perty. (Pl. viii., fig. 1).

Long. 40—50, lat. 12—16, ap. 3μ. Rookwood; Lismore (285, 350).

MENOIDIUM INFLATUM mihi. (Pl. viii., fig. 2).

Forma plana, levissime arcuata, fronte et postice acuta; rostro minuto angustissimo; cytoplasmate plerumque homogeneo, granulis amylaceis millis.

Long. 50—63, lat. 10—12μ. Coogee; Botany (92); Guildford (60); Sydney Water Supply.

Syn. *M. pellucidum* var. *inflatum* Playf., Plankt. Sydney Water, p. 547. More common round Sydney than any other species, not noted yet at Lismore. It is flat like a piece of card, acutely pointed at each end, under side nearly flat, upper arched but not always as much as figured. Rostrum reduced to a mere spine, but from Stein's figures it seems likely that this is only the lower edge of the rostrum, the upper edge growing out of the body,. a little higher up, later on. Cytoplasm generally homogeneous, without granules.

MENOIDIUM ACUTISSIMUM, n.sp. (Pl. viii., fig. 3).

Forma longissima, angustissima; fronte truncata, haud rostrata; pone longe protracta, acutissima; latere inferiore fere recto, superiore quam levissime arcuato; pharynge distincto; stigmate minutissimo; bacillis amylaceis longis angustis in serie singula dispositis ornata.

Long. 200, lat. 8½, ap. 5μ. Lismore; Wyrallah.

A very rare *Menoidium,* but noted from two distinct localities. The body is straight and very long in proportion to the breadth. No distinct rostrum in front, where it is merely narrow and truncate, but the formation and flagellum are as in *Menoidium.* The under side is nearly flat, the upper very slightly arched, the sides diverging slightly from the snout to the anterior quarter, from there gradually converging to the extremely narrow and sharp-pointed hinder end. Cytoplasm hyaline, homogeneous, transparent, allowing a clear view of the bag-shaped pharynx with which are connected a minute c.v. and red stigma. A single series of long thin paramylum rods along the upper side, much more regular than is usual in this genus.

MENOIDIUM GRACILE, n.sp. (Pl. viii., figs. 4, 5).

Forma magna, corpore gracili, arcuato, postice acuminato, fronte rostrato; cytoplasmate plerumque granulato et bacillis amylaceis ornato.

Long. 72—100, lat. 6—8; marg. infer. alt. 6—12μ. Botanic Gardens, Sydney (150); Lismore (225, 260, 350).

Nearly twice as long as the type. Body well-arched, very slender, acuminate but not acute behind, rostrate in front. Cytoplasm generally granulate and with a few paramylum rods in front.

MENOIDIUM INCURVUM Fresenius. (Pl. viii., fig. 6).

Syn. *M. pellucidum* var. *incurvum,* Biol. Richmond River, p. 141. A very small form and rare, though there were plenty in gathering 188 out of weeds in the Richmond River. Broadest in front where it is abruptly truncate, without rostrum, and very active in its movements, darting and twisting about incessantly; there is very little in its appearance to connect it with this genus.

Cf. Klebs, Organ. einig. Flag.; and Daugeard, Recherch. s. l. Euglen., p. 151, f. 46; the latter gives 25 × 7μ as the size.

Long. 16, lat. 5μ. Lismore (188, 358).

MENOIDIUM TORTUOSUM (Stokes) Senn. (Pl. viii., fig. 7).

Syn. *Atractonema tortuosum* Stokes, Infus. U.S. p. 92, Pl. i., f. 31. A narrow spiral form, rostrate in front, acutely pointed behind; cytoplasm homogeneous, with a few paramylum granules or short rods. It moves in a spiral manner, unlike other members of the genus, which either revolve slowly round the long axis or *bore* their way through the water, rocking from side to side in a manner peculiarly their own.

Long. c. 22, lat. 5μ. Stokes gives long. 20—40μ. Lismore (350, 365).

Genus DISTIGMA Ehr.

DISTIGMA PROTEUS var. CLAVATUM mihi. (Pl. viii., fig. 8).

Syn. *Menoidium pellucidum* var. *clavatum* Playf., Biol. Richmond River, p. 142. *Cf.* Senn, Flagellata, pp. 177, 178, f. 128B.

Long. 40—84, lat. 6—12μ. Lismore (187, 188, 365).

Formae. (Pl. ix., figs. 10—13).

These forms have all the appearance of being a distinct species of *Peranema,* but I believe them to be young forms of the preceding.

Long. 18—44, lat. max. 8—12μ. Auburn (139); Pott's Hill (121); Lismore (258).

Genus ASTASIA Dujardin.

ASTASIA MARGARITIFERA Schmarda. (Pl. viii., fig. 9).

I am doubtful about the identification of this infusorian, having never observed it in the free-swimming form figured by Senn, *l.c.*, p. 177, f. 128A. Only when travelling with its characteristic metabolic movement does it draw one's attention, and so I represent it here. The flagellum is very often (generally?) wanting; cytoplasm granulate. On one occasion half a dozen individuals were found living parasitically within the tissues of a living specimen of the *Turbellaria;* they were devoid of a flagellum and worked themselves to and fro with their usual metabolic progression.

Long. c. 20—50μ. Auburn (139); Pott's Hill (121); Lismore (312).

Genus SPHENOMONAS Stein.

SPHENOMONAS QUADRANGULARIS var. CRUCIFORMIS, n.var. (Pl. viii., fig. 10).

Ovate, pointed in front; with four, more or less elevated, longitudinal ridges each containing at the summit a series of granular markings. The European form (type) is rhomboidal in outline, with rounded lateral angles; in end view almost square, with slightly cuspidate sides and sharp angles. Ours are cruciform with deeply excavated sides and rounded tips to the arms. Rare. For the type *see* Stein, T. xxiii., f. 49—53; Kent, T. xxiv., f. 21—23.

Long. 24—27, lat. 10—13μ. Rookwood (107); Lismore (297, 345, 347).

SPHENOMONAS AUSTRALIS, n.sp. (Pl. viii., fig. 11).

Cellulae pyriformes, sursum attenuatae, subacutae; inferne rotundatae; lateribus arcuatis; rugis 6 (visis 4) granulatis per longitudinem dispositis ornata. Vertice visae hexagonae lateribus. emarginatis.

Long. 25—26, lat. 10—12μ. Rookwood; Botanic Gardens, Sydney (156); Lismore (312).

This species is more frequently met with here than any other of the genus. It is drop-shaped, narrowed and subacute in front, rounded behind. End view hexagonal, as the body is ornate with 6 longitudinal granulate ridges. The hinder part of the body is generally a solid ball of some perfectly transparent highly refringent substance (leucosin ? or paramylum ?). So homogeneous and pellucid is it that the granules on the under side can be seen, magnified, through it.

Var. ELLIPTICA, n.var. (Pl. viii., fig. 12).

Cellulae longe-ovatae, paene ellipticae, fronte acuminatae, postice rotundatae, lateribus levissime arcuatis. Dimensiones ut in f. typica. Rookwood (107).

A much less common elliptic form of similar size and characteristics to the type.

Var. RHOMBOIDEA, n.var. (Pl. viii., fig. 13).

Cellulae rhomboideae, lateribus angulatis, utroque polo acuminatae.

Long. ad. 30, lat. 16μ. Guildford (45).

The cells are rhomboidal, sides angled, ends subacutely rounded.

SPHENOMONAS TERES (Stein) Klebs. (Pl. viii., figs. 14, 15).

Syn. *Atractonema teres* Stein, *op. cit.*, T. xxiii., f. 35—41; *Clostenema socialis* Stokes, *op. cit.*, p. 112, Pl. ii., f. 15. Almost, if not quite, as common as the foregoing species. Senn, *l.c.*, p. 177, f. 128D, figures it with only an incipient trailer (the secondary flagellum), but I find specimens with a trailer twice the length of the body, and young forms have no second flagellum at all. The fact is that the trailer develops later than the true flagellum. The latter is of the *Peranema*-type, stout at the base and tailing off to the tip. It is held motionless for the most part, straight out in front; only the tip is in movement. Sometimes the extreme end of the cell is constricted into a little stubby tail.

Long. 20—25, lat. 6—12μ. Auburn (139); Lismore (298, 312, 345).

Var. PYRIFORMIS, n.var. (Pl. viii., figs. 16, 17).

Cellulae ut in f. typica rugis nullis, sed pyriformibus, interdum caudâ brevi subtriangulari instructae.

Long. 16—26, lat. 9—20μ. Auburn (140); Botany (91); Lismore (188, 298, 312).

Smooth and without ridges as in the typical form, but in shape pyriform, with or without a short broad tail.

It is probable that *Sph. teres* is a young form or at least a polymorphic form of *Sph. australis.* I have noted faint longitudinal lines down the body, which seemed to indicate the formation of ridges. In Pl. viii., fig. 18, is shown an intermediate form in which the ridges are plainly visible, but the characteristic marginal granulation was not present and the cell therefore inclined to *Sph. teres.*

SPHENOMONAS TRIQUETRA, n.sp. (Pl. viii., fig. 20).

Cellulae inaequaliter ovatae, utroque polo acuminatae; a vertice visae inaequaliter triquetrae.

Long. 30, lat. 20μ. Rookwood; Botanic Gardens (156).

Irregularly ovate in shape, pointed at each end, with a ridge running spirally down the face; end view irregularly triangular with hollow sides and rounded angles.

Var. CUNEATA, n.var. (Pl. viii., fig. 19).

Cellulae inaequaliter cuneata, fronte rotundatae, postice attenuatae, acuminatae; a vertice visae inaequaliter triquetrae.

Long. 30, lat. 15μ. Guildford.

Somewhat cuneate in shape, broadest in front, where it is rounded off, gradually narrowed to a subacute point behind. A longitudinal ridge down the face; end view irregularly triangular with hollow sides and rounded angles.

SPHENOMONAS EXCAVATA, n.sp. (Pl. ix., fig. 1).

Cellulae oblongae, subrectangulares; extremitatibus lateribusque arcuatis; utroque polo bullâ conicâ praeditae; rugis 3, mediano spirale, per longitudinem dispositis instructae; flagello recto. A vertice visae subrectangulares, utrinque rugis altis 3. A latere late-fusiformes.

Long. 32, lat. 21, crass. c. 16μ. Lismore (358).

Subrectangular, ends and sides arched; at each pole a conical boss, from the anterior part of which the straight thick *Peranema* flagellum springs. No trailer noted. Three deeply excavated longitudinal ridges run down both the upper and under face, the central one somewhat spiral. End view subrectangular, with 3 strongly marked ridges front and back, the other two sides slightly hollowed. Side view broadly fusiform or lenticular. Membrane smooth; cytoplasm hyaline, transparent, homogeneous. No paramylum, no granulation of the ridges.

SPHENOMONAS SPIRALIS, n.sp. (Pl. ix., fig. 2).

Cellulae ambitu late-fusiformes, superne acutae, inferne obtusae; rugis spiralibus 5—6 paene transverse dispositis alte excavatae; membrana glabra; cytoplasmate retracto, granulato, hyalino; flagello recto, crasso, interdum secundo retrorsum directo.

Long. 40, lat. 34μ. Botanic Gardens, Sydney (156).

Broadly lenticular in general outline, pointed above, obtuse below, deeply scored by 5 or 6 spiral ridges laid almost horizontally and from left to right. Membrane smooth; cytoplasm retracted, hyaline, granular; a stout flagellum directed straight forward, sometimes also a trailer.

Var. ANGUSTA, n.var. (Pl. ix., fig. 3).

Cellulae ambitu longe-ovales; utroque polo obtusae infra marginem spinâ praeditae; rugis spiralibus 3—4 oblique dispositis alte excavatae; cytoplasmate haud retracto; ceteris ut in forma typica.

Long. 40, lat. 21μ. Lismore.

General outline long oval; obtuse at each end, with a sharp point within the margin; only 3—4 ridges spirally and obliquely wound; cytoplasm not retracted; a flagellum and a trailer observed.

SPHENOMONAS MIRABILIS, n.sp. (Pl. ix., figs. 4, 5).

Cellulae oblongae, utroque polo rotundatae; costis spiralibus 6 oblique vel per longitudinem dispositis ornatae; membrana glabra, costis haud granulatis; cytoplasmate retracto, hyalino, granulato; flagello valido recto.

Long. 34—36, lat. 18—23μ. Lismore (328, 345, 365).

Cell oblong, rounded at each end; membrane smooth, ridged by 6 sharp-edged spiral costae longitudinally and more or less obliquely wound and from right to left (the opposite way to *Sph. spiralis*). Cytoplasm retracted, hyaline, granulate, flagellum stout, straight, no trailer noted. End view circular.

Fam. PERANEMACEAE.

Genus PERANEMA (Ehr.) Stein.

PERANEMA TRICOPHORUM (Ehr.) forma. (Pl. ix., fig. 6).

Forma angusta arcuata. Long. 50, lat. 10μ.

I doubt if I have ever seen the type of this species. The European form is fusiform. The specimen figured is narrower and arched. Botanic Gardens, Sydney (156). *Cf.* Senn., p. 180, f. 130A.

PERANEMA CUNEATUM, n.sp. (Pl. ix., figs. 7—9).

Long. 25—70, lat. 5—15μ. Auburn (139, 140); Botanic Gardens (156); Parramatta (132); Lismore (187).

This is the common *Peranema* of our waters. It is, when free-swimming, cuneate, sharp-pointed in front and abruptly truncate behind; one corner is sometimes produced as a pointed tail directed backwards, or a blunt wart-like prominence often bifid and placed to one side. A minute stigma may occasionally be observed. Cytoplasm homogeneous and transparent. Neither Stein nor Dujardin describe or figure anything even remotely resembling this form. The body is metabolic.

PERANEMA ASPERUM, n.sp. (Pl. ix., fig. 14).

Forma corpore globoso; granulis amylaceis ubique asperrima.

Long. 15—16, lat. 11—12μ. Rookwood; Lismore (286).

A small, irregular, globose or subglobose form with the surface rugged all over with large irregular amylaceous granules.

Var. RECTANGULARE, n.var. (Pl. ix., fig. 15).

Forma cylindracea. Dimensiones ut in forma typica.

Genus URCEOLUS Mereschowski.

URCEOLUS SABULOSUS (Stokes) Senn. (Pl. ix., fig. 16).

Syn. *Urceolopsis sabulosus* Stokes, *op. cit.*

Long. 42, lat. 19; lat. oris 13μ. Lismore.

Hyaline, granular, surface slightly rough, mouth and neck smooth. It glides along applying the huge mouth (which seems to be a kind of open pharynx) to the floccose and sucking in anything edible.

Genus HETERONEMA (Duj.) Stein.

HETERONEMA ACUS Ehr. (Pl. ix., fig. 17).

Long. 30—90, lat. 3—6μ. Auburn (159); Botany; Pott's Hill (121).

Flagellum and trailer noted.

Genus TROPIDOCYPHUS Stein.

TROPIDOCYPHUS OCTOCOSTATUS Stein. (Pl. viii., fig. 21).

I give a side view of an animalcule that may be this species. Stein, T. xxiv., f. 1—5; Senn, p. 183.

Genus NOTOSOLENUS Stokes.

NOTOSOLENUS PENTAGONUS, n.sp. (Pl. ix., figs. 2, 3).

Forma corpore pentagono; fronte acute-rotundata, pone truncata; lateribus emarginatis; angulis rotundatis; vertice visa compressa.

Long. 21, lat. 17μ. Lismore (358).

There are three other species described and figured by Stokes, *op. cit.*, p. 108, Pl. ii., f. 10—14; *cf.* Senn, p. 183. All forms of the genus are compressed arcuate in end view. This species forms a fairly regular pentagon with the anterior angle somewhat produced; body truncate behind, widest in the middle; sides emarginate, angles rounded. Cytoplasm hyaline, finely granular in the centre of the cell, with a pharynx-like mark below the flagellum. Stokes also remarks on this. Flagellum thick, straight, a long trailer sometimes present.

Genus ANISONEMA Dujardin.

ANISONEMA ACINUS Duj. (Pl. ix., fig. 18).

Syn. *Anisonema ovatum* Maskell, Trans. N.Z. Inst., N.S., vol. 20, 1887, T. i., f. 8; Maskell gives long 20μ. Our specimens agree entirely with Dujardin's figure and description (*op. cit.*, p. 345, Pl. iv., f. 27; not Pl. v. as in the text). Senn's figure (*Flagellata*, p. 183, f. 134A) is quite different, being elliptical and attenuate slightly to each end. Dujardin's dimensions, long. 20 to 31μ, just cover Maskell's and ours. The trailer is very long, quite three times the length of the body sometimes.

Long. 30, lat. 18μ. Rookwood; Lismore (260).

ANISONEMA HEXAGONUM, n.sp. (Pl. ix., fig. 19).

Cellulae inaequaliter hexagonae; in medio subquadratae; sursum et inferne triangulari-conicae; utroque polo acutae; lateribus rectis; uno latere transverse striata.

Long. c. 30, lat. 18μ. Duck Creek, Clyde; Guildford.

Irregularly hexagonal, central part subquadrate; above and below triangular-conical, ends pointed, sides straight, transversely striate, apparently on one side only; flagellum and long trailer observed.

Var. ELEGANS, n.var. (Pl. ix., fig. 20).

Quam forma typica longior et angustior.

Long. c. 40, lat. 10μ. Duck Creek, Clyde; Guildford.

The same general shape as the type, but longer and more slender. Both very rare, sizes only estimated.

ANISONEMA GRANDE (Ehr.) Stein. (Pl. ix., fig. 21).

Long. c. 38, lat. 21, crass. c. 10½μ. Lismore (328).

Syn. *Bodo grandis* Ehr.; *cf.* Stein, T. xxiv., f. 6—11, but his figures are not convincing and look too much like *Anisonema acinus* Duj. which he gives as a synonym. That is, however, a much smaller species, only about half the size of this. Kent's figures are copies of Stein's, except f. 30 (after Butschli). The latter seems to represent our form. The subapical groove, in which the trailer is inserted, is not conspicuous as in *A. acinus*. The hinder part of the body often contains coloured masses of ingested food-stuffs and even whole organisms such as *Trachelomonas*. There is the usual stout straight flagellum and very long thick trailer, often three times the length of the body. The latter is compressed in side view.

Genus ENTOSIPHON Stein.

ENTOSIPHON SULCATUM (Duj.) Stein. (Pl. ix., fig. 22).

Long. 22, lat. 14μ. Lismore. Rare.

Syn. *Anisonema sulcata* Duj., p. 345, Pl. iv., f. 28. Senn gives long. 15—25, lat. 7—15μ.

EXPLANATION OF PLATES I.—IX.

Plate i.

Fig. 1.—*Poteriodendron petiolatum* Stein (x 800).
Fig. 2.— ,, ,, var. *Abbotti* (Stokes) mihi (x 800).
Figs. 3, 4.—*Salpingoeca ampullacea* (A. Br.) Stein (x 1600).
Fig. 5.— ,, ,, var. *cordata*, n. var. (x 1600).
Fig. 6.— ,, *amphoridium* var. *australica* mihi (x 1600).
Fig. 7.— ,, *Steinii* Kent (x 1600).
Figs. 8, 9.— ,, *oblonga* Stein (x 2400).
Fig. 10.—*Bodo edax* Klebs (x 2400).
Fig. 11.— ,, *saltans* Ehr. (x 2400).
Fig. 12.—*Trepomonas agilis* Duj. (*a*) front, (*b*) side (x 2400).
Fig. 13.—*Hexamita inflata* Duj. (?) (x 2400).
Figs. 14, 15.—*Ochromonas aspera*, n.sp., (*a*) side (x 2400).
Fig. 16.— ,, *cylindracea*, n.sp., (*a*) side (x 2400).
Figs.17-21.—*Dinobyron sertularia* Ehr. (17, 19) two forms of lorica; (18) zooid; (20, 21) cysts; (all x 1200).
Figs. 22, 23.—*Dinobyron sertularia* var. *angulatum* Seligo, two forms, (x 1200).
Figs. 24, 25.— ,, *cylindricum* var. *divergens* (Imhof) Lemm. (x 1200).
Figs. 26, 27.— ,, *utriculus* (Ehr.) Klebs, two forms, (x 1600).
Figs. 28, 29.— ,, ,, var. *Tabellariae* Lemm., (28) five individuals joined by the discs of their pedicels (x 1600); (29) cyst (x 1200).

Plate ii.

Figs. 1, 2.—*Mallomonas acaroides* Perty; (1) young form, type (x 800); (2) mature form (x 1200).
Fig. 3.—*Mallomonas splendens* (G. S. West) Playf. (x 1200).
Fig. 4.— ,, ,, var. *pusilla*, n. var. (x 1200).
Fig. 5.— ,, *australica*, n.sp. (x 1600).
Fig. 6.— ,, ,, v. *gracillima*, n. var. (x 1600).
Figs. 7, 8.— ,, ,, v. *subglobosa*, n. var. two stages of growth, (x 1200).
Fig. 9.— ,, *litomesa* Stokes (x 1600).
Fig. 10.— ,, ,, var. *curta*, n. var. (x 1600).
Fig. 11.—*Phaeococcus planktonicus* W. & G. S. West (x 320) (*a*) simple zooid (x 960).
Figs. 12-14.—*Scintilla chlorina*, n.sp.; (12) x 2400, (13, 14) x 1600.
Fig. 15.— ,, *splendida*, n.sp. (x 800).
Figs. 16-18.—*Synura virescens* (Bory), three forms; (all x 1600).
Figs. 19-22.—*Chilomonas paramecium* Ehr., four forms; (all x 1600).
Fig. 23.—*Cryptomonas ovata* Ehr. (x 800).
Fig. 24.— ,, *ampulla*, n.sp. (x 800).
Fig. 25.— ,, *maxima*, n.sp. (x 800).
Fig. 26.— ,, *Nordstedtii* (Hausg.) Senn. (x 1600).
Fig. 27.— ,, *gemma*, n.sp. (x 1600).
Fig. 28.— ,, *oblonga*, n.sp. (x 1600).

Plate iii.

Fig. 1.—*Eutreptia viridis* Perty (x 560).
Fig. 2.—*Colacium vesiculosum* (Ehr.) Stein (x 1200).
Fig. 3.— ,, ,, forma, *cf.* Stein, T. xxi., f.31,32 (x 1200).
Figs. 4-6.— ,, *elongatum*, n.sp. (4) x 1200, (5,6) x 2400.
Fig. 7.—*Euglena viridis* Ehr., large cylindrical form (x 1200).
Figs. 8, 9.— ,, *sociabilis* Daugeard (x 800).
Figs. 10, 11.—,, *amblyophis* (Ehr.) mihi (x 400).
Figs. 12, 13.—,, *deses* Ehr. (13) another form of head (x 960).
Fig. 14.— ,, ,, developing out of the vegetative cell (x 800).

Fig. 15.—*Euglena deses* var. *minuta*, n. var. (x 1200).
Fig. 16.— „ „ var. *intermedia* Klebs (x 1200).
Fig. 17.— „ *oxyurus* Schmarda (x 300).
Fig. 18.— „ „ var. *helicoidea* (Bernard) mihi (x 300).
Fig. 19.— „ „ var. *gracillima*, n. var. (x 400).

Plate iv.

Fig. 1.—*Euglena tripteris* (Duj.) Klebs. (x 480).
Fig. 2.— „ *spirogyra* (Ehr.) (x 800).
Fig. 3.— „ „ with granules forming here and there (x 400).
Fig. 4.— „ „ var. *elegans*, n. var. (x 800).
Fig. 5.— „ *acus* Ehr.; our nearest form (x 600).
Fig. 6.— „ *acutissima* Lemm. (x 600).
Figs. 7, 8.— „ „ var. *parva*, n. var. (7) x 1200, (8) x 800.
Figs. 9-11.— „ *pisciformis* Klebs. (x 1200).
Fig. 12.— „ *texta* (Duj.) Senn, showing striae (x 800).
Fig. 13.— „ „ var. *ovata*, n. var. (x 960).
Fig. 14.— „ „ var. *obesa*, n. var. (x 525).
Figs. 15, 16.—„ „ var. *bullata*, n. var. (15) x 525, (16) x 1200.
Fig. 17.— „ *guttula*, n.sp. (x 1200).
Fig. 18.— „ „ var. *elongata*, n. var. (x 1200).
Fig. 19.— „ *vivida*, n.sp. (x 1800).
Figs. 20, 21—„ *pusilla*, n.sp. (20) x 1600, (21) x 1800.
Fig. 22.— „ „ var. *longa*, n. var. (x1200)
Fig. 23.— „ sp. ? (x 1200).

Plate v.

Fig. 1.—*Phacus pleuronectes* (Müller) Duj. (x 800).
Fig. 2.— „ „ var. *minutus*, n. var. (x 800).
Fig. 3.— „ „ var. *australis*, n. var. (x 480).
Fig. 4.— „ *hispidulus* (Eichwald) (x 1200).
Fig. 5.— „ *monilata* var. *suecica* Lemm. (x 1200).
Fig. 6.— „ *longicauda* (Ehr.) Duj. (x 400).
Fig. 7.— „ „ var. ——— Lemm. (x 800).
Figs. 8-11.— „ *triqueter* (Ehr.) Duj. (x 960).
Figs. 12, 13.—„ *inflatus*, n.sp. (x 1600)
Fig. 14.— „ *lismorensis*, n.sp. (x 960).
Fig. 15.— „ *pyrum* var. *ovatus*, n. var. (x 1600).
Fig. 16.— „ „ var. *australicus* mihi. (x 960).
Fig. 17.— „ „ var. *rudicula*, n. var. (x 1200).
Fig. 18.—*Cryptoglena australis*, n.sp. (*a*) side; (x 1600).
Fig. 19.— „ *phacoidea*, n.sp. (x 1800).

Plate vi.

Fig. 1.—*Lepocinclis Steinii* var. *suecica* Lemm. (x 1200).
Fig. 2.— „ *sphagnicola* Lemm. (?); (x 1200).
Figs. 3, 4.— „ *cymbiformis*, n.sp. (x 1200).
Figs. 5, 6.— „ *capitata*, n.sp. (5) x 1200, (6) x 800.
Figs. 7, 8.— „ *costata*, n.sp. (x 1600).
Fig. 9.— „ „ v. *obesa*, n. var. (x 1600).
Figs. 10, 11.— „ *paxilliformis*, n.sp. (x 800).
Fig. 12.—*Trachelomonas volvocina* var. *planktonica*, n. var. (x 1200).
Fig. 13.— „ „ var. *scabra*, n. var. (x 1200).
Fig. 14.— „ „ var. *coronetta*, n. var. (*a*) another collarette; (x 1600).
Fig. 15.— „ „ var. *pustulosa*, n.var (x 1200).

Fig. 16.—*Trachelomonas botanica* var. *borealis*, n. var. (x 800).
Figs. 17, 18.— ,, *ovalis* Playf. (17) with discoid chloroplasts, (18) chlorophyll irregularly reticulated (x 1200).
Fig. 19.— ,, *teres* Maskell, forma. *(a.b.c)* three other forms of collar (x 1200).
Fig. 20.— ,, *bulla* var. *australis* Playf. (x 800).
Fig. 21.— ,, *oblonga* Lemm. (x 1600).
Fig. 22.— ,, *pulcherrima* var. *minor* Playf. (x 1200).
Fig. 23.— ,, *Volzii* var. *sulcata*, n. var. (x 1200).
Fig. 24.— ,, *ampullula* var. *major* Playf.; a scrobiculate form with zooid. (x 1200).
Fig. 25.— ,, ,, var. *gracilis*, n. var. (x 1200).
Fig. 26.— ,, ,, var. *elliptica*, n. var. (x 1200).
Fig. 27.— ,, *clavata* var. *subarmata* Playf., a lorica with reticulate surface, and zooid. (x 1200).
Fig. 28.— ,, *eurystoma* var. *parva*, n. var. (x 1800).
Figs. 29, 30.— ,, *coronata*, n.sp. (x 1200).

Plate vii.

Fig. 1.—*Trachelomonas splendida*, n.sp. with zooid showing internal structure and diffused chlorophyll. (x 1050).
Fig. 2.— ,, *bacillifera* var. *minima* Playf. (x 1600).
Fig. 3.— ,, ,, var. *globulosa*, n. var. (x 1200).
Fig. 4.— ,, *armata* var. *glabra* Playf., showing zooid with reticulate chlorophyll. (x 960).
Fig. 5.— ,, ,, var. *duplex* Playf., form with pointed, not bacillar, anterior awns. (x 800).
Fig. 6.— ,, *paucispinosa*, n. sp. (x 1600).
Fig. 7.— ,, *scabra* var. *cordata* Playf. forma. (x 1600).
Fig. 8.— ,, *acuminata* var. *amphora* Playf. zooid with diffused chlorophyll. (x 960).
Fig. 9.— ,, *urceolata* Stokes with zooid. (x 800).
Fig. 10.— ,, *Girardiana* var. *glabra*, n. var. with zooid. (x 1200).
Fig. 11.— ,, *hesperia*, n.sp. (x 1600).
Figs. 12–14.— ,, *napiformis* var. *brevicollis*, n. var. (12) showing zooid, x 800. (13, 14) other forms of neck, x 1200.
Fig. 15.— ,, *cuneata*, n.sp. (x 1200).
Fig. 16.— ,, *gibberosa* var. *longicollis*, n. var. (x 1200).
Fig. 17.— ,, ,, var. *tumida*, n. var. (x 960).
Fig. 18.— ,, *rotundata* mihi. (x 960).
Figs. 19, 20.— ,, *lanceolata*, n.sp. (19) from Parramatta; (20) from Lismore (x 1200).
Fig. 21.— ,, *spiralis*, n.sp. (x 1200).
Fig. 22.— ,, *lismorensis* var. *mirabilis* Playf., characteristic spine.

Plate viii.

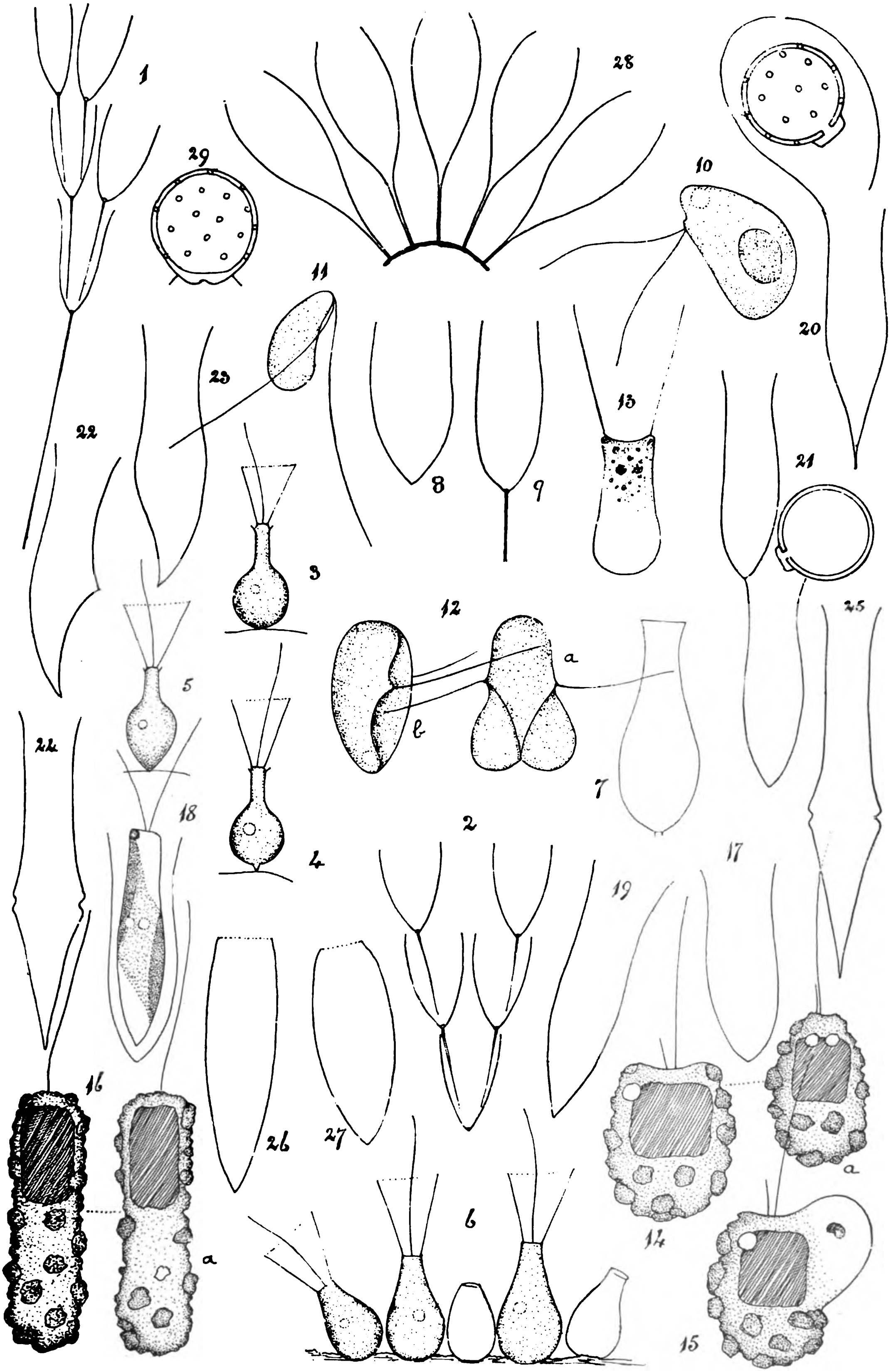
Fig. 1.—*Menoidium pellucidum* Perty, type. (x 1200).
Fig. 2.— ,, *inflatum* mihi. (x 800).
Fig. 3.— ,, *acutissimum*, n.sp. (x 600).
Figs. 4, 5.— ,, *gracile*, n.sp. (x 800).
Fig. 6.— ,, *incurvum* Fresenius (x 1800).
Fig. 7.— ,, *tortuosum* (Stokes) Senn, three specimens (x 800).
Fig. 8.—*Distigma proteus* var. *clavatum* mihi. (x 800).
Fig. 9.—*Astasia margaritifera* Schmarda. (x 1800).
Fig. 10.—*Sphenomonas quadrangularis* var. *cruciformis*, n. var. (*a*) end view. (x 1600).
Fig. 11.— ,, *australis*, n.sp.; (*a*) end view. (x 1600).
Fig. 12.— ,, ,, var. *elliptica*, n. var. (x 1600).
Fig. 13.— ,, ,, var. *rhomboidea*, n. var. (x 1600).

Figs. 14, 15.— ,, *teres* Stein (14) type x 2400; (15) form x 1900.
Figs. 16, 17.— ,, ,, var. *pyriformis*, n. var. (16) x 2400; (17) x 1600.
Fig. 18.— ,, ,, form, with incipient ridges. (x 1600).
Figs. 19, 20.— ,, *triquetra*, n.sp. (20) type x 1200; (19) var. *cuneata* n. var. x 1200. *(a, a)* end views.
Fig. 21.—*Tropidocyphus octocostatus* Stein (?) side view (x 1600).

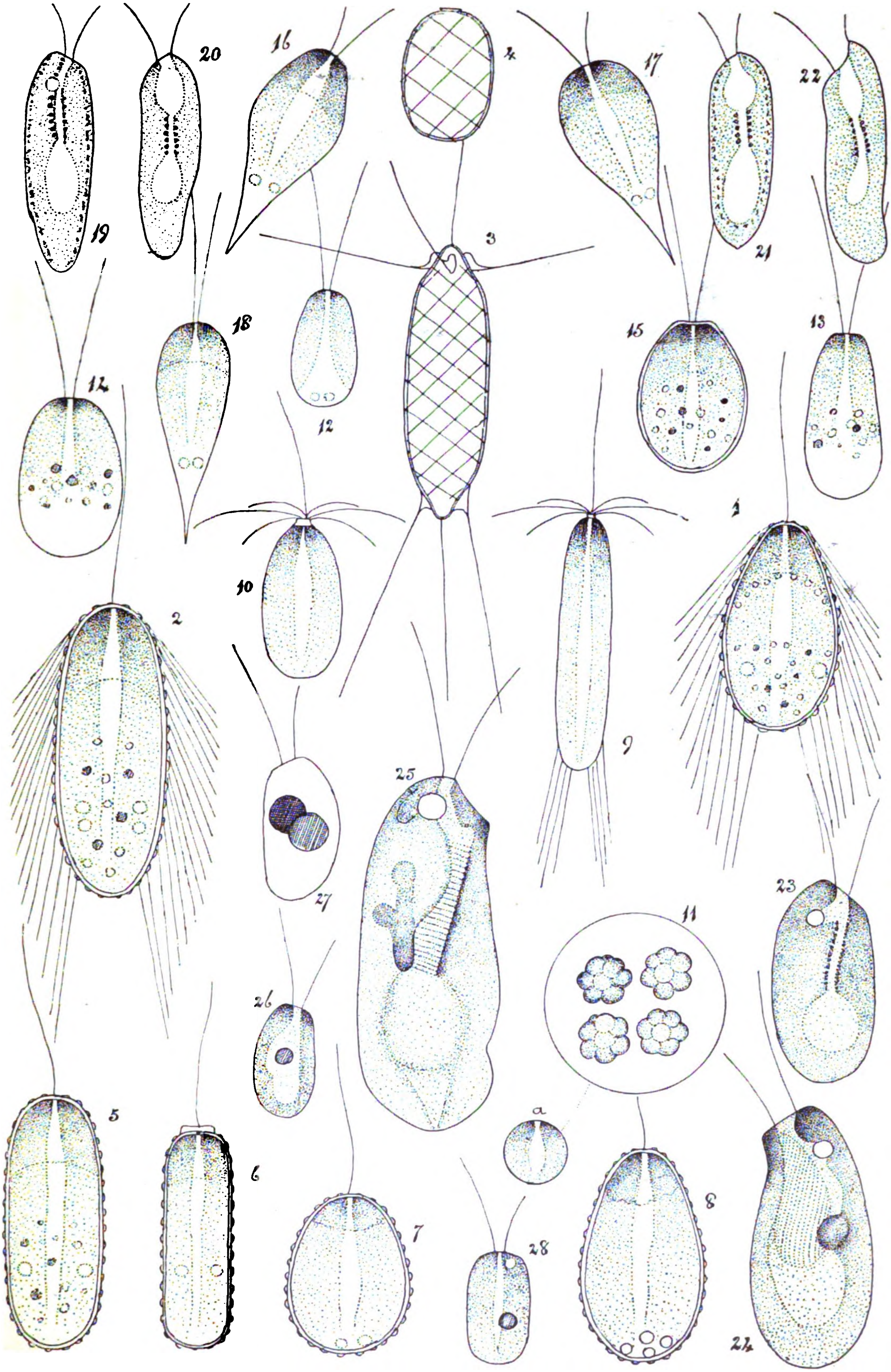
Plate ix.

Fig. 1.—*Sphenomonas excavata*, n.sp. (*a*) side, (*b*) end (x 1200).
Fig. 2.— ,, *spiralis*, n.sp. (x 960).
Fig. 3.— ,, ,, var. *angusta*, n. var. (x 960).
Figs. 4, 5.— ,, *mirabilis*, n.sp. (x 1200).
Fig. 6.—*Peranema tricophorum* (Ehr.), forma. (x 800).
Fig. 7–9.— ,, *cuneatum*, n.sp. (x 800).
Figs. 10–13.—*Distigma proteus* var. *clavatum* mihi, supposed young forms. (x 800).
Fig. 14.—*Peranema asperum*, n.sp. (x 1200).
Fig. 15.— ,, ,, var. *rectangulare*, n.var. (x 1200).
Fig. 16.—*Urceolus sabulosus* (Stokes) Senn. (x 800).
Fig. 17.—*Heteronema acus* Ehr. (x 800).
Fig. 18.—*Anisonema acinus* Duj. (x 1600).
Fig. 19.— ,, *hexagonum*, n.sp. (x 1600).
Fig. 20.— ,, ,, var. *elegans*, n. var. (x 1600).
Fig. 21.— ,, *grande* (Ehr.) Stein (*a*) side. (x 1200).
Fig. 22.—*Entosiphon sulcatum* (Duj.) Stein (x 1600).
Fig. 23.—*Notosolenus pentagonus* n.sp. (x 1600).

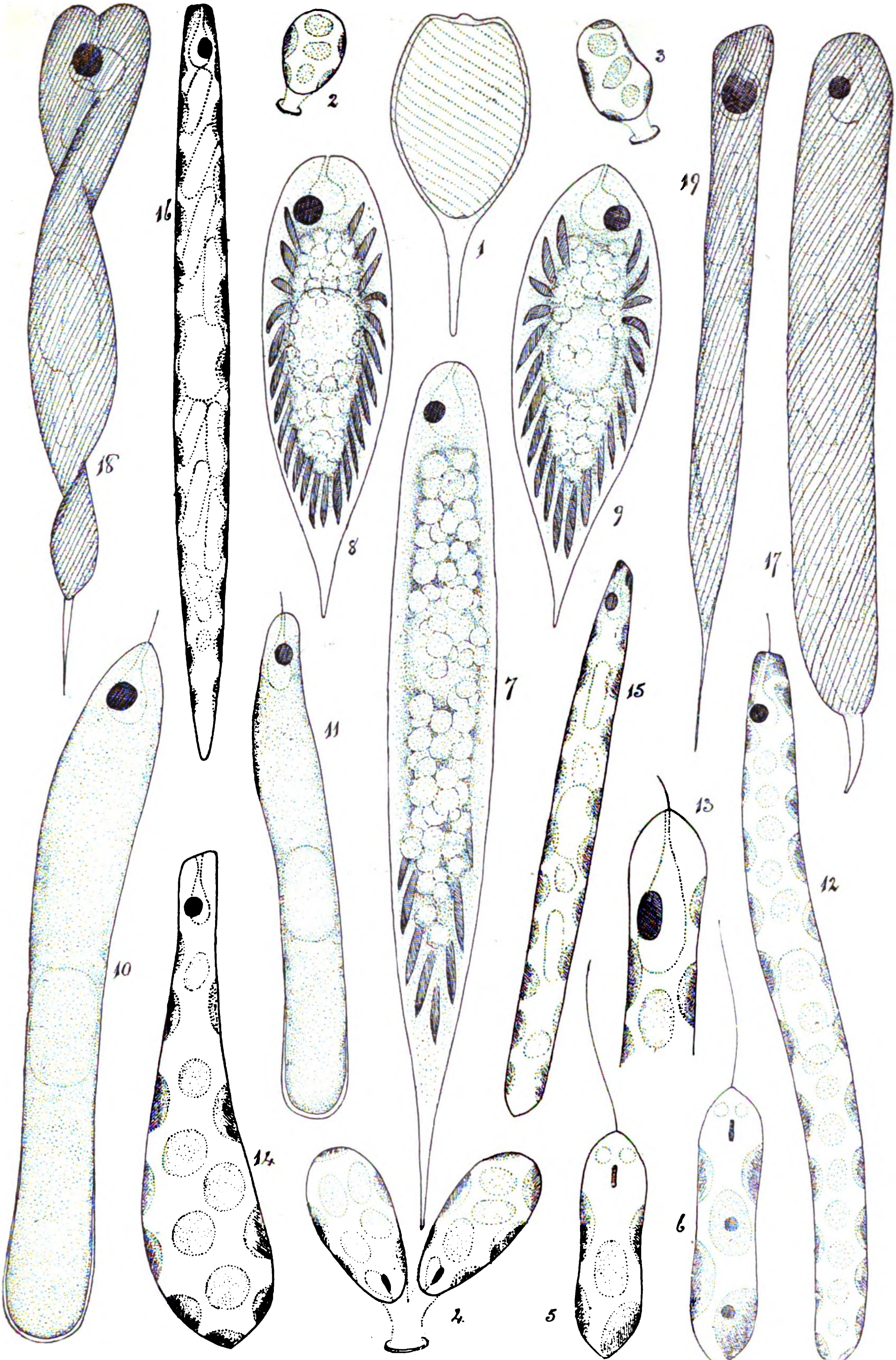
PLATE I.



Australian Freshwater Flagellates.

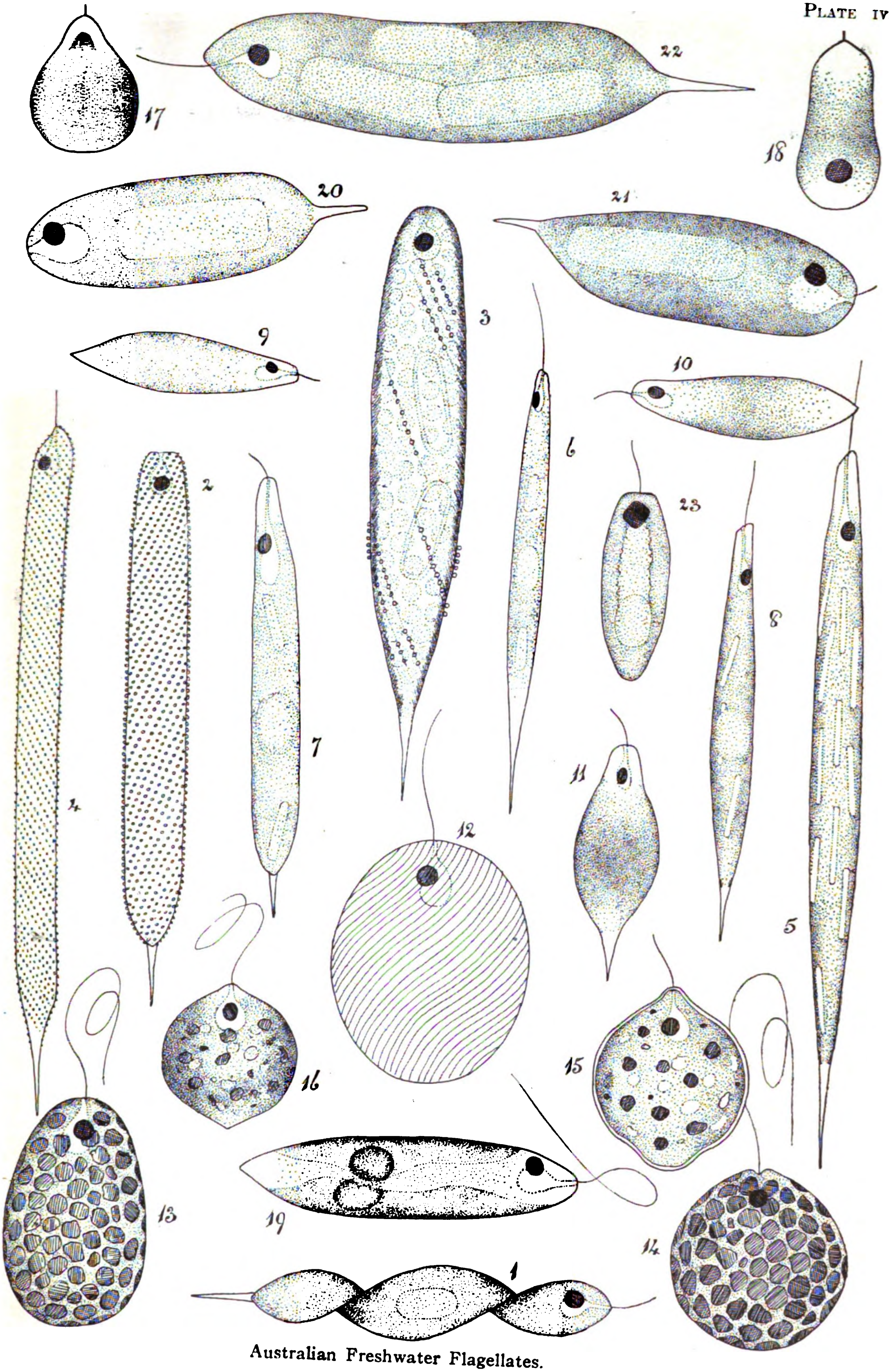


Australian Freshwater Flagellates.

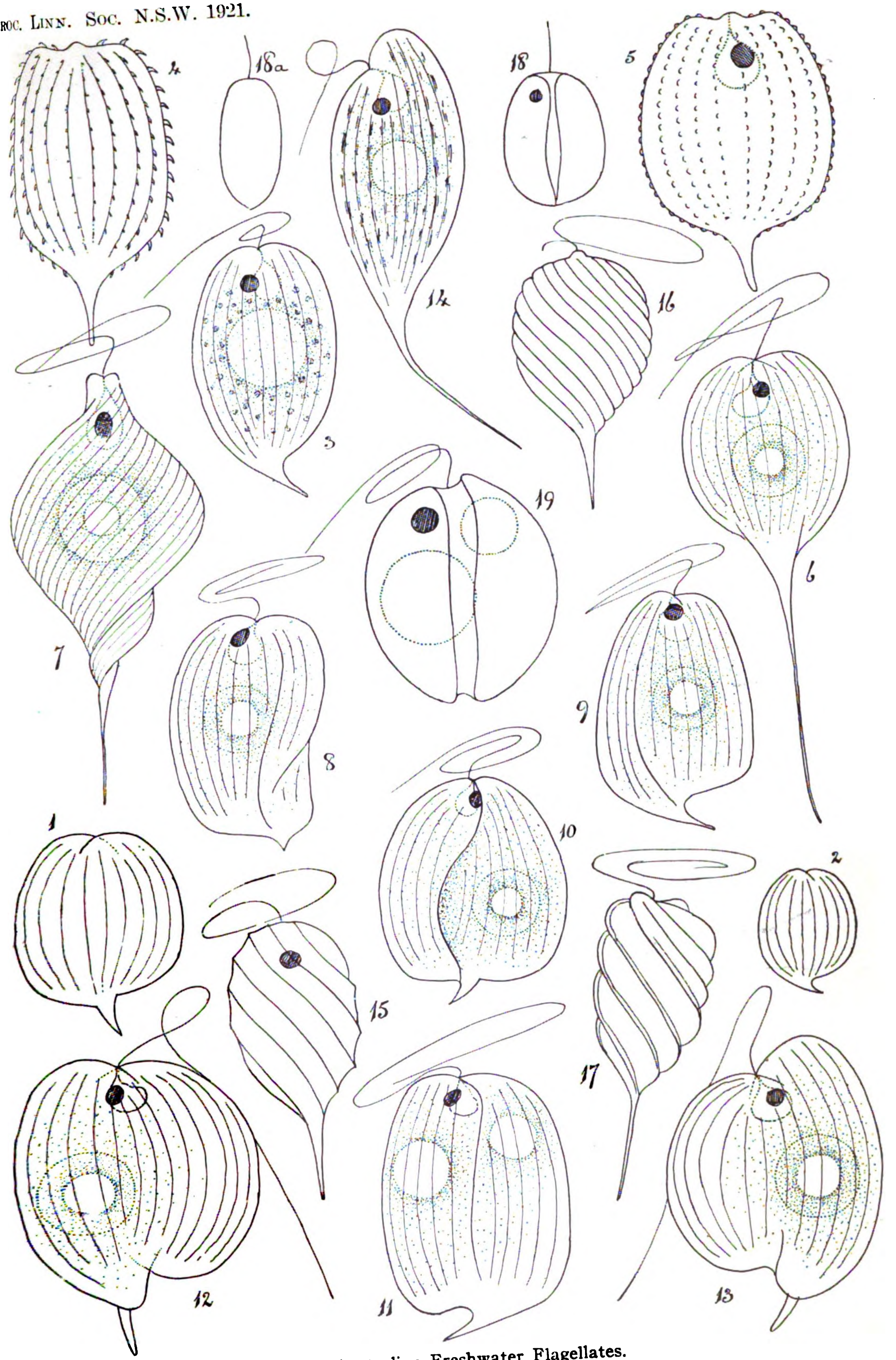


Australian Freshwater Flagellates.

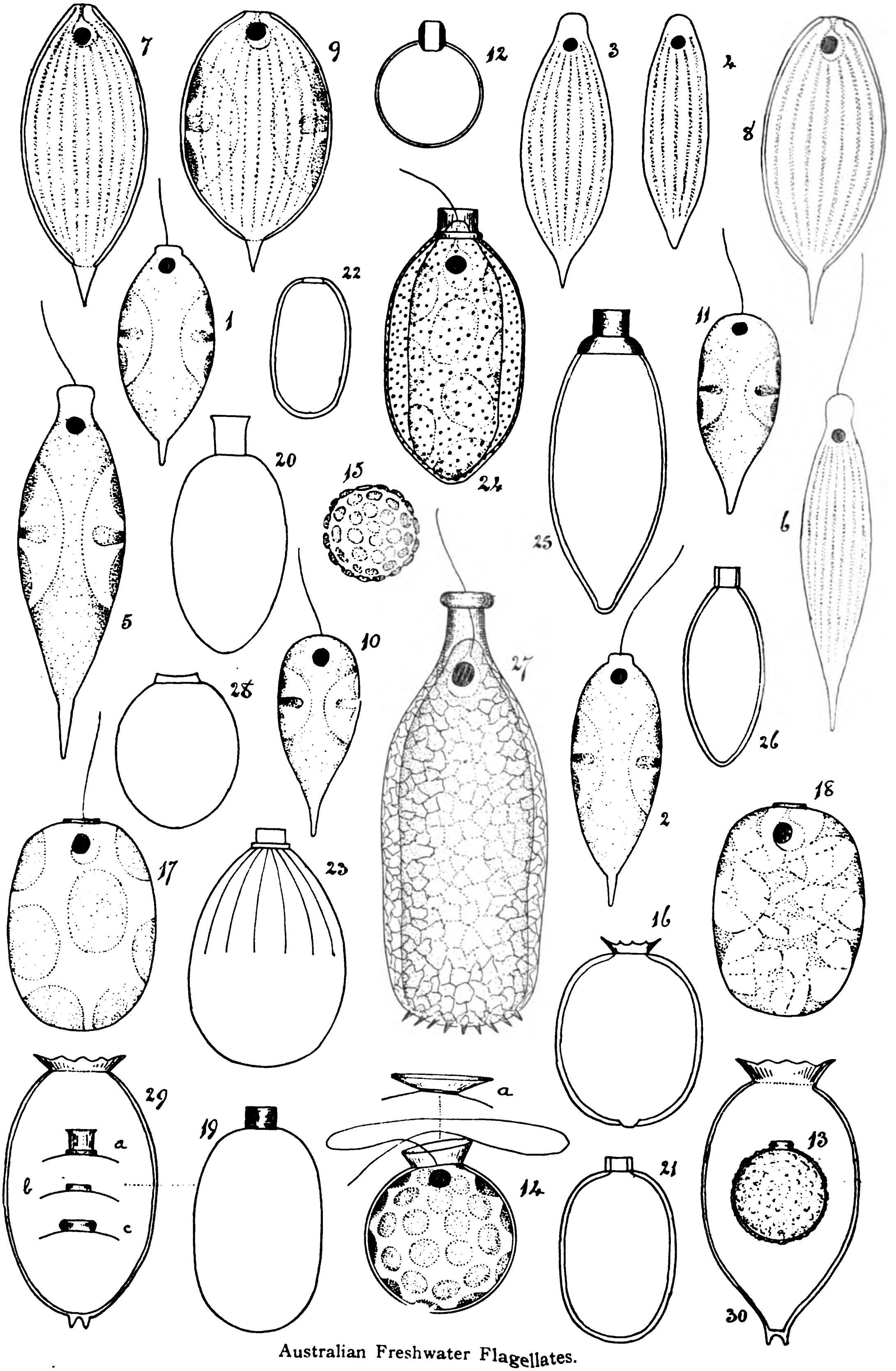
PLATE IV.



Australian Freshwater Flagellates.

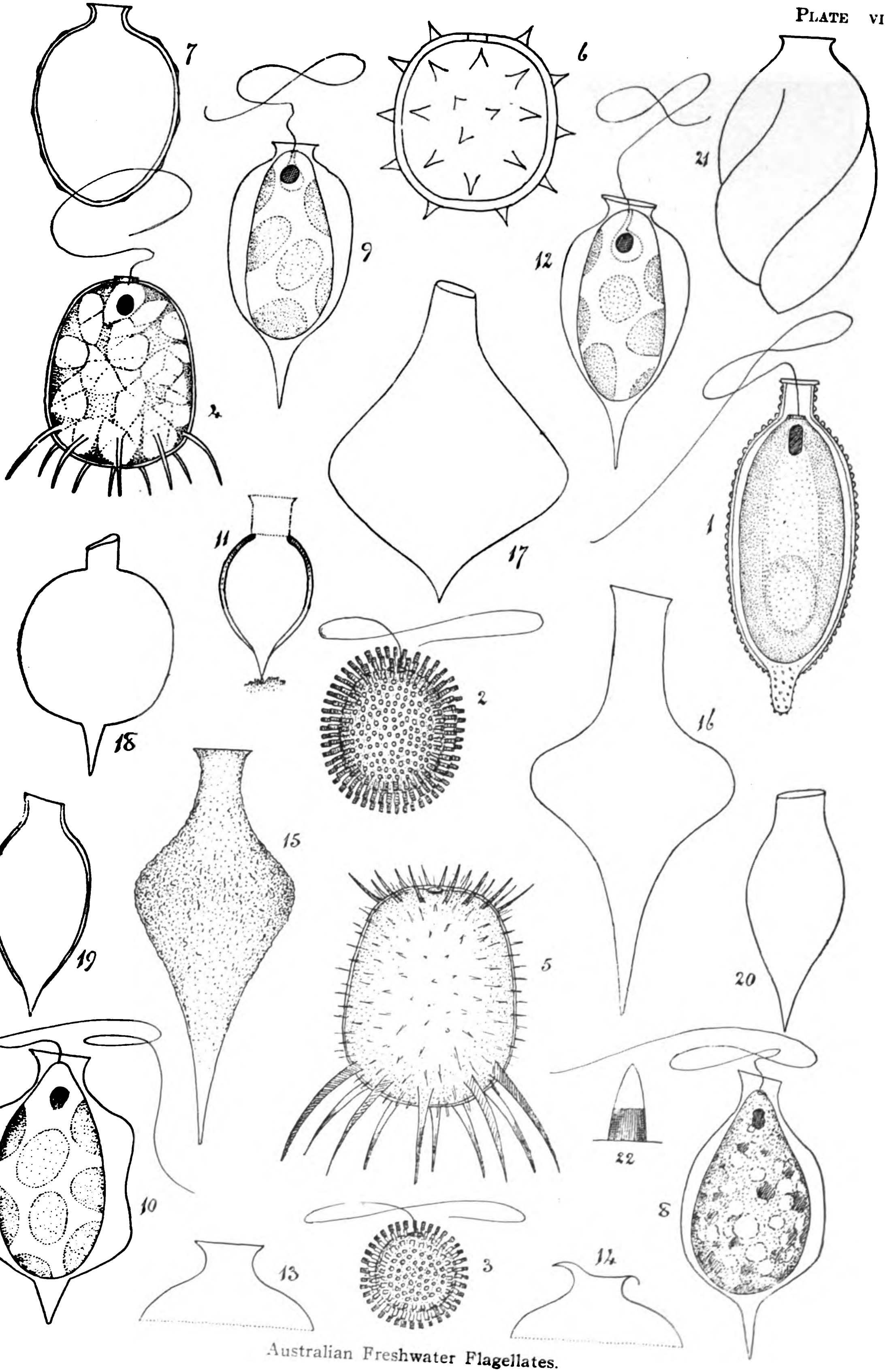


Australian Freshwater Flagellates.

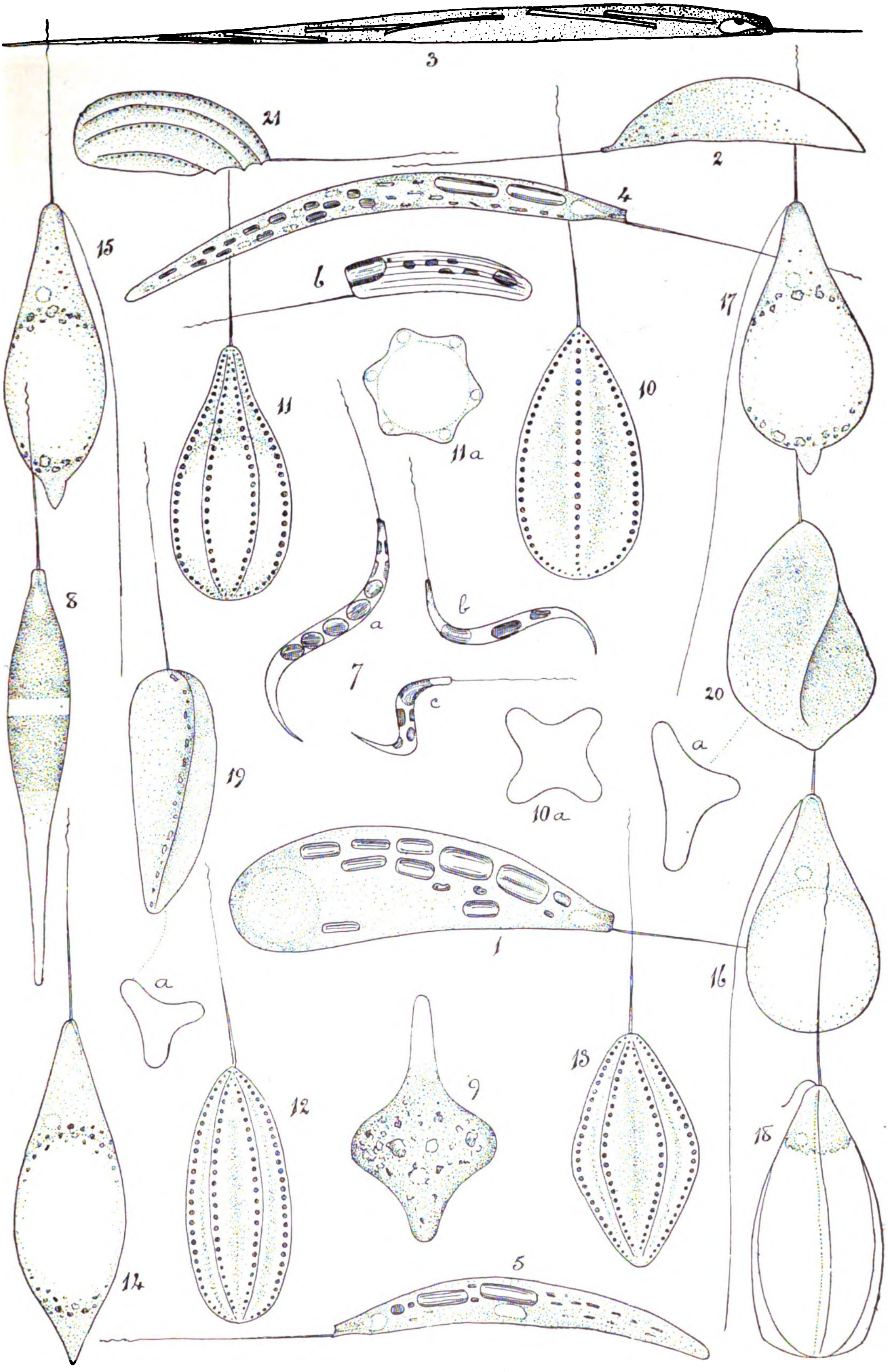


Australian Freshwater Flagellates.

PLATE VII.

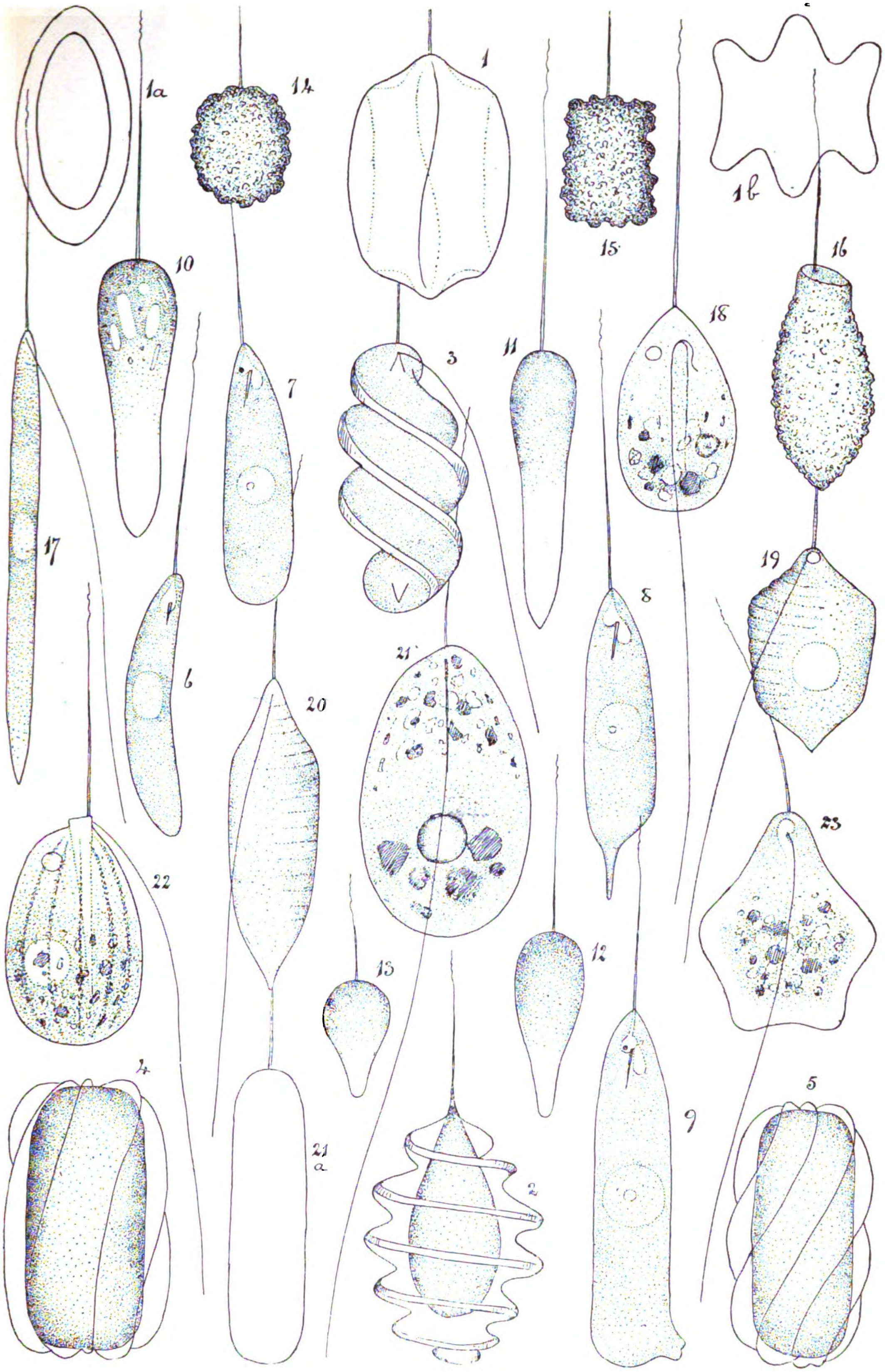


Australian Freshwater Flagellates.



Australian Freshwater Flagellates.

PLATE IX.



Australian Freshwater Flagellates.

layfair, G. I.
15.

18

[*From the Proceedings of the Linnean Society of New South Wales,*
1915, Vol. xl., Part 1, March 31st.]

THE GENUS *TRACHELOMONAS.*

BY G. I. PLAYFAIR, RESEARCH SCHOLAR OF THE UNIVERSITY OF SYDNEY IN HYDROBIOLOGY AND PLANKTON.

(Plates i.-v.; and Text-figs. 1-20.)

[Issued 16th June, 1915.]

[*From the Proceedings of the Linnean Society of New South Wales,*
1915, Vol. xl., Part 1, March 31st.]

THE GENUS *TRACHELOMONAS.*

By G. I. Playfair, Research Scholar of the University of Sydney in Hydrobiology and Plankton.

(Plates i.-v.; and Text-figs.1-20.)

Very little attention has been given to this interesting genus of freshwater flagellates. Senn, in his "Anhang zu den Flagellata" (Engler & Prantl," Die Natürlichen Pflanzenfamilien, 1900) gives the number of species as six. Stein, however, in "Die Naturgeschichte der Flagellaten" (Abt. iii., H. i. of his "Organismus der Infusionsthiere," 1878), had already figured 10 species. Half of these date back to Ehrenberg, viz., *Tr. volvocina*, *Tr. cylindrica*, *Tr. lagenella*. *Tr. armata*, and *Tr. caudata*, though often under other generic names. *Tr. hispida* Perty, *Tr. acuminata* Schmarda, *Tr. bulla* Stein, *Tr. rugulosa* Stein, and *Tr. eurystoma* Stein, make up the remainder. Kent, "Manual of the Infusoria," 1878, gives descriptions of those mentioned by Stein, but figures of five only. Stokes, "Freshwater Infusoria of the United States" (Journ. Trenton Nat. Hist. Soc., 1888), describes five other species, *Tr. verrucosa* Stokes, *Tr. acanthostoma* Stokes, *Tr. torta* Kellicott, *Tr. piscatoris* (Fisher) Stokes, and *Tr. urceolata* Stokes, with figures of the last three. In "Notices of New Freshwater Infusoria" (Amer. Phil. Soc., 1890), the same author proposed four other species, viz., *Tr. cervicula*, *Tr. similis*, *Tr. obovata*, *Tr. spinosa*. Other publications containing notices of new forms are: Klebs, "Organization einiger Flagellatengrupper" (Bot. Inst. zu Tubingen, 1881-85), *Tr. reticulata* Klebs; Dangeard, "Recherches sur les Eugléniens" (Botaniste, 1902), *Tr. intermedia* Dangeard, with notes and figures of *Tr. volvocina*, *Tr. rugulosa*, *Tr. lagenella*, *Tr. hispida*, *Tr. caudata*, *Tr. armata*, and *Tr.*

reticulata; Lemmermann, "Reise nach der Pacific" (Abh. Nat. Ver. Bremen, Bd. xvi., 1899), *Tr. oblonga*, n.sp.; Lemmermann, "von Dr. Volz gesammelten Süsswasseralgen" (*ibid.*, Bd. xviii., 1904), *Tr. Volzii*, n.sp., with observations on *Tr. volvocina*, *Tr. oblonga*, *Tr. euchlora* (*Tr. lagenella*), *Tr. hispida*, *Tr. armata*, and *Tr. bulla*, figures and descriptions of new forms; Bruno Schröder, "Alg. der Versuch. zu Trachenberg"(Plöner Berichte Th.v.,1897), figures of two variations of *Tr. hispida*; Maskell, "On Freshwater Infusoria" (Trans. New Zealand Inst., 1886), figure and description of *Tr. crenatocollis*, n.sp.; *ibid.*, 1887, *Tr. teres*, n.sp.

As I have not access to either Ehrenberg, "Die Infusorienthiere," 1838; Perty, "Kleinster Lebensformen in der Schweiz," 1852; or Schmarda, "Neue Formen von Infusorien," 1850, I have been obliged to accept Stein's excellent figures as typical of the seven species described in these memoirs. *Tr. armata*, however, is excepted, in whose case, Ehrenberg's original description is quoted by Lemmermann, *l.c.*, Bd. xviii, p.165. I know of no publications, other than the above, containing new forms of *Trachelomonas*.

These memoirs give a total of 25 published species of greater or less validity, and 8 variations, the majority of which are discussed in this paper, in addition to a large number of types and variations apparently never before noted. In many cases, unfortunately, the exact European type has not been observed by me, but only a very similar form, showing, however, the specific characteristics sufficiently well for identification. It is, indeed, through these "very similar forms" that what is truly characteristic and what is not, become most clearly discernible.

The present paper deals with forms of *Trachelomonas* found in New South Wales during the past seven years, and even then only in the two districts of Sydney and Lismore. Whatever may be the case in Europe, our waters here are very rich in forms of the genus, exhibiting a great variety of types. Ground-gatherings are best, out of swampy places, and especially out of shallow rainwater pools on grass-lands, the favourite haunt of green flagellates of all descriptions. Gatherings out of weeds are not, as a rule, so good.

LOCALITIES referred to in this paper; the numbers correspond to samples deposited in the National Herbarium, Sydney.

In the Sydney district.

Auburn 56, 135, 139, 148, swampy ground on railway opposite Ritchie's; 57, 68, pool in the angle of meat-works siding; 119, 120, 140, 163, swampy ground on railway towards Rookwood.

Botany 37, 92, water-reserve, weeds; 51, 152, ditto, ground-collection; 91, 151, swampy ground near tram-terminus; 108, 142, 145, Gardener's Road, swamps.

Botanic Gardens 3, 137, 150, gardeners' tank, weeds; 158, duck-pond, weeds.

Canley Vale 110, pool on railway towards Cabramatta, weeds.

Centennial Park 11, 133, weeds out of ponds.

Coogee 4, sphagnum-bog on cliffs, ground-collection.

Fairfield 79, swampy ground on railway towards Guildford; 143, weeds, Orphan School Creek.

Guildford 60, pool on railway, weeds; 45, 70, 77, 88, 146, ditto, ground; 76, 114, pool on railway nearer Merrylands, ground.

Parramatta Park 96, lake, weeds; 136, ditto, plankton; 165, 166, rainwater pools.

In the neighbourhood of Lismore.

Casino 189, weeds, Richmond River.

Kyogle 218, 219, lagoons, ground-collection.

Lismore 176, 183, 225, weeds, Richmond River; 240, swamp on railway towards Woodlawn; 241, lagoon behind Foley's; 236, 237, lagoon near North Lismore Station; 238, 254, lagoon on Goolmangar Road; 242, rainwater pools foot of Girard's Hill; 244, ditto, near Drill Hall; 245, 246, ditto, vacant ground in Conway Street.

SYDNEY GATHERINGS.—Out of 116 mixed gatherings, 40 contained species of *Trachelomonas* in some quantity, with a varying number of forms. Of these 40, 28 were off the ground, and only 12 out of weeds, to which must be added that, in the latter, the forms of *Trachelomonas* present were almost invariably very sparsely distributed. The larger number of samples contained from 1 to 5 forms, but a few were very rich, yielding 10, 11, 12, 14, 15, 21, and even 24 varieties. The last mentioned (151) was from a shallow, insignificant rainwater-pool on grass-land, and almost every one of the 24 varieties was in profusion.

LISMORE GATHERINGS.—Only 12 forms were noted in the Richmond River, out of 20 very rich squeezings from weeds, and of these 12, the larger number were out of one sample (225), and extremely scarce. Of 23 ground-gatherings, only 9 contained *Trachelomonas* in any quantity, but these were very fine. They were taken in the winter of 1914, from shallow rainwater-meres, and small pools on level grass-lands. One of them (237), besides 18 varieties of *Trachelomonas*, yielded *Euglena viridis*, *Eu. acus*, *Eu. pisciformis*, *Eu. deses*, *Eu. tripteris* and var., *Eu. oxyuris*, *Phacus pleuronectes*, '*Ph. longicauda*, *Ph. pyrum*, *Ph. monilata* var. *suecica* Lemm., *Phacus*, sp.n., *Chlamydomonas globulosa*, *Gonium pectorale*, *Pandorina morum*, and *Spondylomorum quaternarium*, all in great profusion. Twenty-one varieties of *Trachelomonas* had been obtained from the same place a week before.

Another noteworthy Lismore sample is No.242, from a muddy rainwater-swamp by the roadside at the foot of Girard's Hill. It yielded 20 forms of *Trachelomonas*, *Volvox Bernardii*, *Euglena tripteris* var., 5 varieties of *Lepocinclis* (*Chloropeltis*), *Synura uvella*, *Eudorina elegans* and var., *Pandorina morum*, *Chlamydomonas globulosa*, and *Chl. intermedia*, all in quantity.

SPECIES.—Altogether, 104 forms of *Trachelomonas* are mentioned below as occurring in this country. Of these, 38 are common to both Sydney and Lismore, 37 have, so far, been found only in Sydney, and 29 at Lismore only. At the former, the total number of varieties noted was 75, at the latter 67. The surface-soil, in districts where gatherings were made, was of three different kinds: at Botany, Coogee, and Centennial Park, sand; at Auburn, Canley Vale, Fairfield, Guildford, and Parramatta, clay (often right up to the surface); in the Lismore district, deep black loam. Yet, under all circumstances, the forms described retain their characteristics and dimensions, and all the common forms noted originally round Sydney are found also at Lismore, though the two districts are 350 miles apart. These species and variations, therefore, may be relied upon to be of some fixity of character. The Lismore forms are rarer, more interesting and distinct than those from Sydney, e.g., *Tr. bulla* var. *australis*, *Tr. conica* vars., *Tr. Lismorensis*, *Tr. verrucosa* Stokes, *Tr. scabra* and vars., *Tr. eurystoma* Stein, and vars., *Tr. caudata* var. *australica*, *Tr. urceolata* var. *Girardiana*. On the other hand, the tailed forms were almost confined to Parramatta Park, and Duck Creek, Auburn.

NOMENCLATURE.—With regard to the nomenclature, of those mentioned, 25 are ranked as species, 75 as variations, and 4 as forms. The species, of course, are the *conventional* species current in microscopical studies for purposes of classification. I use the terms "species," "variation," and "form" as merely three degrees of comparison in distinctness of outward configuration—in *Trachelomonas*, the shape of the lorica. In the forms and variations there is generally some biological connection with the type, though not always, e.g., *Tr. clavata* var. *spinosa*, *Tr. urceolata* var. *Girardiana*, and *Tr. caudata* var. *australica*; these are each variations of a type-*form*, but probably are not developed from the type itself. They are neither found in company with it nor replacing it, but are collateral Australian types. The conventional species, on the other hand, are merely type-forms, and are not indicative of any biological distinctness. They do not generally, indeed, develop one into another, but each comes into existence by development from the root-form of the true species. I recognise only two biological species in *Trachelomonas* —(1) comprising all the rounded forms, (2) the tailed (stipitate) forms, and of these two even, the latter is of doubtful distinctness (*cf.* Stein, T.xxii., f.22, where *Tr. hispida* is portrayed with a tail; also *Tr. subglobosa* mihi, Pl. v., f.20, 21, which simulates *Tr. volvocina*, and of which one form is obscurely tailed). Among the rounded varieties, *Tr. volvocina* is the root-form, and in the stipitate, some minute form like *Tr. sessilis* var. *minima*, the conventional species being merely polymorphic forms of growth developed from them. I have come to realise, however, that any system of nomenclature based on polymorphism is futile. Some attempt of this kind was made by me in "Polymorphism and

Life-history in the *Desmidiaceæ*" with regard to the Desmids, and also in "Plankton of the Sydney Water-Supply" with forms of *Lagerheimia* and *Peridinium*. While answering very well for genera like *Docidium*, where the forms comprised in one true species are very much alike, a system of nomenclature which makes each conventional species a variation of the oldest published type, is inconvenient for general use on account of the intricate and extensive polymorphism that prevails. And this for four reasons:—(1). It seems absurd to make widely differing types variations one of the other, even while admitting their position in the same species. (2). The oldest type is very often not the root-form of the true species, and many of the variations are more closely connected with one another than with the nomenclatural type, so that the system has not even the merit of indicating the exact biological position of the variations concerned. (3). So many of the variations have other forms intimately connected with them that it necessitates the frequent use of three-term nomenclature, which is exceedingly cumbrous. (4). The forms biologically connected together in one true species are so widely different in appearance, that only after prolonged observation can the fact of their relationship be determined; and as older and still older forms are correlated, the nomenclatural type keeps changing, to the confusion of the nomenclature. While holding, therefore, just as strongly to the position that the recognised species are mere polymorphic forms (subspecies of vastly broader true species), with regard to the nomenclature, I have returned to the generally accepted scheme. I see no reason why, for convenience' sake, we should not work in species which are frankly conventional, provided that the true state of affairs in Nature is freely recognised. The species, it is true, is a biological entity, not a conventional one, but the polymorphism of the lower orders of microscopic vegetable and animal life being as wide-spreading as it is, it is impossible to reconcile the exigencies of nomenclature (simplicity and conciseness) and biology (true connection of forms by life and growth) so that the name of an organism shall be the index of its biological position in Nature.

Reproduction.—The polymorphic character of the various accepted species of *Trachelomonas* is best shown in the reproduction. It is true, no doubt, that, in permanent waters, propagation takes place largely by self-division, but it has been shown above (and indeed it is a commonplace of my experience) that the home of *Trachelomonas*, and of the green flagellates generally, is in shallow rainwater-pools which become entirely dry at longer or shorter intervals. Under these circumstances, the Infusoria, flagellate and ciliate alike, reproduce themselves by micro-zoospores formed by the splitting up of the whole body. These micro-zoospores, settling down, form resting-cells, and when their habitat is revivified by rain, the type is reproduced from the resting-cell after a longer or shorter period of vegetative growth. The vegetative stages of *Euglena* and *Phacus* are well-known. If the various forms of *Trachelomonas* were specifically distinct, there would be a distinct resting-cell and course of development for each. But though I have paid special attention to localities such as I have mentioned, I have never found any other resting-cell than that which is directly associated with the very smallest sizes of *Tr. volvocina*. Compare my remarks on the Peridinieæ, "Plankton of the Sydney Water-Supply," p.541. I have not seen the micro-zoospores, but the act of emission is figured by Stein, *l.c.*, T. xxii, f.10 and 31. The pale colour of the lorica, in forms found in newly-filled rainwater pools or swamps, forbids the idea that the organisms have survived the dry season; they are quite evidently a new growth.

Lorica.—With regard to the composition of the lorica, Stokes, *l.c.*, p.88, quotes some remarks by Fisher (Proc. Amer. Soc. Micros., 1880) as follows:—"On testing with solution of potash or soda . . . . the spines are detached from their bases, whilst the lorica remains unaffected, either in form or rigidity. Thus the probability is established that these spines, again like those of the Echinodermata, are articulated to the lorica by an organised membrane which yields to the action of the salt, and the separation is effected. On testing with hydrochloric acid, brisk effervescence immediately takes place; the main body of the lorica is dissolved. . . . . The chief constituent of the lorica is, therefore, shown to be calcareous."

Nearly all the forms described in this paper have been observed in a living condition, the character of the flagellum and of the body in each case leaving no doubt that the organism was a genuine *Trachelomonas*. The specimens were carefully measured in detail, and drawn mostly to the scale of 1500 diameters, which has been reduced in the reproduction to 1000. The magnification employed in observation was that of $\frac{1}{8}$ inch objective with 15 diam. ocular.

INFUSORIA.

Family EUGLENIDÆ Stein.

Genus TRACHELOMONAS Ehr.

Synonyms :—*Lagenella* pro parte, *Chætoglena* p.p., and *Chætotyphla** Ehrenberg; *Lagenella* Schmarda; *Cryptomonas* Dujardin p.p., *Chonemonas* and *Trypemonas* Perty; *Cryptoglena* Clap. et Lachmann; *Laguncula* Fisher, Proc. Amer. Soc. Micros., 1880.

TRACHELOMONAS VOLVOCINA Ehr. (Pl. i., f.1).

Diam. 5, 10, 12, 16, 18, 20, 22, 24, 25, 26, 27, 30 μ.

Everywhere, very common.

Lorica perfectly spherical, with smooth clear membrane pale yellow to dark red. Very seldom found with a neck. Sizes over 27 μ diam. are very rare; I have observed only a single specimen. Dangeard, Les Eugléniens, p.128, has included oval forms in this species; these, however, belong to *Trach. intermedia* Dang., *q.v.*, var. *levis* mihi.

Var. PELLUCIDA Playf.

Diam. 4-10 μ. Lorica quite colourless.

Botanic Gardens 158; Auburn 139; Lismore 176, 183.

Cf. Biol. Richm. R., these Proceedings, 1914, p.141, Pl. viii., f.3. Klebs, Organis. einig. Flagellatengr., p.319, has noted a variety, γ *hyalina*, but, in his form, it is the body that is colourless, without chlorophyll.

---

* Senn, Flagellata, p.176, gives the name as *Chætophlya* Ehr.; Stein and Lemmermann refer to it as *Chætotyphla* Ehr.

Var. PUNCTATA, n.var. (Pl. i., f.2).

Lorica levis sed crasse et densissime punctata. Diam. obs. 13, 14 μ.

Botanic Gardens 3a; Parramatta 165, 166. Rarissime.

Var. GRANULOSA, n.var. (Pl. i., f.3).

Lorica minute sed densissime granulata, plerumque achroa. Diam. 11, 12 μ.

Botany 151; Lismore 241. Rarissime.

Var. CERVICULA (Stokes) mihi. (Pl. i., f.4).

This form has the neck produced inwardly. *Cf.* Stokes, Proc. Amer. Phil. Soc., 1890, fig.11(*Trach. cervicula*). Only two specimens seen.

Diam. 32 μ.

Auburn 139, 140. Very rare.

TRACHELOMONAS INTERMEDIA Dang. (Pl. i., f.5).

Lorica ovalis vel subglobosa, punctata; collo nullo.

Long. 19-22, lat. 15-17 μ.

Lismore 236, 245.

Cf. Dangeard, Recherches s. l. Eugléniens, p.135, f.42, who gives 20 x 16 as dimensions. The type very rare here.

Var. LEVIS, n.var. (Pl. i., f.6-8).

Lorica ovalis vel subglobosa, vulgo sine collo, levis; ore sæpe introrsum levissime producto.

Long. 15-22, lat. 12-19, lat. oris 3 μ.

Auburn 120, 135, 139, 140, 163; Guildford 114; Botany 145; Lismore 236, 237, 238, 240, 242.

TRACHELOMONAS BOTANICA, n.sp. (Pl. i., f.9).

Lorica subglobosa, levis, vulgo sine collo; a tergo minuta, obscura papilla instructa.

Long. 40, lat 34, lat. oris 7 μ.

Botany 151. Rarissime.

Var. GRANULOSA, n.var.

Lorica formæ typicæ consimilis, minute autem granulata.

Long. 40, lat. 34 μ.

Botany 151. Cum priori, rarissime.

Var. MINOR, n.var. (Pl. i., f.10).

Long. 26, lat. 23 μ.

Auburn 163.

In this variation, if the papilla is wanting, a paler, weaker spot often marks its position.

TRACHELOMONAS OVALIS Playf. (Pl. i., f.11).

Lorica ovalis vel oblonga, collo nullo, perfecte glabra, achroa vel luteo-fusca.

Long. 30-44, lat. 22-34 μ.

Guildford 146; Casino 189; Lismore 237.

Trach. armata is probably the outgrowth of this form, as the posterior spines do not develop *pari passu* with the rest of the lorica, but later. It is also very likely that there is a connection between this species and *Trach. Botanica*, as a broad, circular, incrassate spot is sometimes noticeable at the hinder end. *Cf.* these Proceedings, 1914, p.141, Pl. viii., f.4 Syn. *Tr. lagenella* Dangeard, Les Eugléniens, p.131, f.40 (non Stein).

Var. LATA, n.var.

Lorica oblonga, præ forma typica latior, collo brevissimo instructa.

Long. 38, lat. 32; lat. oris 6; coll. alt. 1 μ.

Lismore 237.

For the same length of cell, the breadth in this form is one-fifth greater than in the type.

Var. SCROBICULATA, n.var.

Lorica crasse scrobiculata, translucens, candore carnoso.

Long. 31-40, lat. 22-30 μ.

Lismore 236, 237.

This variation, like many other Australian forms, is of a pinky-yellow or very pale brown colour, quite distinct from the clear yellow of *Trach. volvocina* and others, and which I designate here by the name of buff.

Var. MINOR, n.var. (Pl. i., f.12).

Lorica levis sed scrobiculata, candore carnoso, ovalis vel oblonga, minor quam forma typica.

Long. 26-28, lat. 22-24 μ.
Lismore, 236, 237, 246.

TRACHELOMONAS BULLA var. AUSTRALIS, n.var. (Pl. i., f.13).

Lorica ovata, levis, quam forma typica magis acuminata, collo recto nec attenuato.

Long. 28-29, lat. 16; coll. alt. 2-3, lat. 3 μ.

Lismore 236, 237.

A very rare form of which I have seen but few specimens. Cf. *Trach. bulla* Stein, Naturg. d. Flagellaten, Hälfte i., T. xxii., f. 42. His figure works out at 50 x 21 μ.

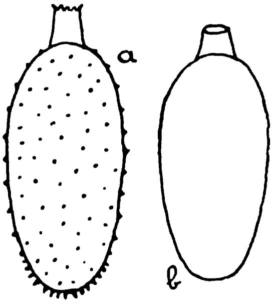


Fig. 1.—*Tr. bulla* Stein, x 650, after Stein.

TRACHELOMONAS OBLONGA Lemm. (Pl. i., f.14-16).

Long. 10-19, lat. 8-12; lat. oris 3 μ.

Coogee 4; Guildford 60, 114; Auburn 68; Botany 51, 142; Centennial Park 133; Canley Vale 110; Lismore 225, 237, 238, 240, 242, 245.

Cf. Lemmermann, Reise n. d. Pacific (Abh. Nat. Ver. Bremen, Bd. xvi., 1899), p.344. No figure is given, but the likeness of our forms to var. *truncata* Lemm., (*ibid.*, Bd. xviii., 1904, p.165, T. xi., f.7, 8) is so marked, that I think there can be no doubt about the identification. Lemmermann's description runs :—Lorica oval (*länglich rund*), yellow-brown, surface smooth, 13-16μ long, 11-12μ broad. Membrane 1 μ thick. This description would make the type oval, yet the name "*oblonga*" has been chosen; both the published figures of var. *truncata*, l.c., are distinctly oblong, not oval, and the same expression (*länglich rund*) is used of the variation as of the type, nor is any difference in outline noted. I take it, therefore, that "*länglich rund*" here is equivalent to "*oblonga ubique rotundata.*"

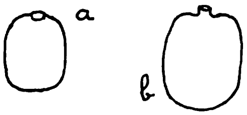


Fig. 2. — *Tr. oblonga* var. *truncata* Lemm., x 1000, after Lemmermann.

Var. AUSTRALICA, n.var. (Pl. i., f.17-21).

Lorica globosa vel plus minusve quadrata, angulis rotundatis; collo lato humillimo semper instructa; membrana levi.

Long. 11-22, lat. 10-20; coll. alt. 1, lat. 3-6 μ.

Auburn 120, 139, 140, 163; Botany 142, 145, 152; Canley Vale 110; Guildford 114; Lismore 236, 237, 238, 241, 245.

The very broad ring-shaped neck is characteristic of this form, which ranges in shape from globose to quadrate or oblong, and varies considerably in size.

Var. ATTENUATA, n.var. (Pl. i., f.22, 23).

Lorica levis, fronte quadrata angulis rotundatis, postice leviter attenuata et late-rotundata; vulgo collo brevi.

Long. 11-20, lat. max. 8-13 μ.

Coogee 4; Guildford 60; Centennial Park 133; Botany 142, 151; Lismore 236, 242.

Var. SCABRA, n.var. (Pl. i., f.24).

Lorica ubique scabra granulis humillimis obscuris sparse dispositis.

Long. 24, lat. 19; coll. alt. 2, lat. 6 μ.

Auburn 120.

TRACHELOMONAS PUSILLA, n.sp. (Pl. i., f.25).

Lorica minuta, levis, modice cordiformis, fronte levissime deplanata, postice paullulo acuminata; collo nullo; ore lato.

Long. 10-16, lat. 9-16 μ.

Canley Vale 110; Guildford 114; Botany 142, 151, 152; Lismore 242, 245.

Var. ROTUNDA, n.var. (Pl. i., f.26).

Lorica levis ubique rotundata, nec acuminata, globosa, fronte levissime deplanata; ore lato.

Long. 11-12, lat. 10 μ.

Auburn 163; Botany 151; Guildford 114; Lismore 238, 242.

Var. PUNCTATA, n.var. (Pl. i., f.27).

Long. 15, lat. 14 μ. Botany 145.

Trachelomonas cylindrica Ehr. (Pl. i., f.28, 29).

Lorica smooth, cylindrical with parallel sides, broadly rounded behind, more or less shouldered in front, but our forms are not generally so rectangular as those figured by Stein, with a low ring-shaped neck.

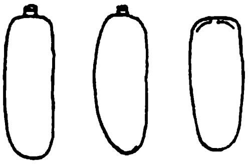


Fig.3.—*Tr. cylindrica* Ehr., ×650, after Stein.

Long. 16·20, lat. 8-10; coll. alt. 1, lat. 3 μ.

Botanic Gardens 3; Auburn 120; Botany 142, 145, 152; Lismore 236, 237, 241, 242.

Var. **decollata**, n.var. (Pl. i., f.30).

Lorica levis, cylindracea, plerumque latior; collo nullo.

Long. 16-20, lat. 8-10 μ.

Botanic Gardens 3.

Var. **punctata**, n.var. (Pl i., f.31).

Lorica major, punctata, fronte posticeque vulgo late-rotundata; collo brevi humillimo.

Long. 26-38, lat. 12-14; coll. alt. 1, lat. 4 μ.

Botany 142, 152; Lismore 242.

This form is not only punctate, but larger than the type, the breadth of which is commonly about 8 μ, while var. *punctata* is just as regularly about 12 μ.

Trachelomonas pulcherrima, n.sp. (Pl. i., f.32, 33).

Lorica levis, candore carnoso, anguste-elliptica; apicibus late-rotundatis; lateribus leniter arcuatis; collo humillimo aut nullo.

Long. 20-26, lat. 9-12; coll. alt. 1-2, lat. 4 μ.

Centennial Park 11; Botany 91, 151, 152; Lismore 240, 241, 242.

Var. **latior**, n.var. (Pl i., f.34, 35).

Lorica levis sed sæpe punctata, præ forma typica latior, æqualiter elliptica; apicibus late-rotundatis; collo plerumque nullo.

Long. 20-27, lat. 12-14 μ.

Botany 151; Lismore 236, 237, 238, 245.

Differs from the type principally in its relatively greater breadth; long. : lat. = 1·5 to 1·8 : 1 but, in the type, 2·0 to 2·4 : 1. The neck also is generally wanting and the lorica often punctate.

Var. OVALIS, n.var. (Pl. i., f.36).

Lorica var. *latioris* dimensionibus sed ovalis, polos versus magis acuminata, lateribus magis arcuatis, apicibus rotundatis; collo nullo; membrana dilute fulva interdum punctata.

Long. 22-23, lat. 13-15; lat. oris 4 μ.

Botany 151; Lismore 245.

Oval-elliptic, instead of linear-elliptic, with sides converging from the centre to the ends.

Var. MINOR, n.var. (Pl. i., f.37, 38).

Lorica minor, cetera ut in formis duabus precedentibus.

Long. 12-19, lat. 8-12 μ.

Botany 151, 152; Lismore 240, 242.

Includes both the preceding forms in smaller sizes.

Var. LISMORENSIS, n.var. (Pl. i, f.39, 40).

Lorica collo quadrato valido instructa.

Long. 25-26, lat. 10-11; coll. alt. 2½-3, lat. 3-4 μ.

Lismore 236, 237, 241.

Var. GRANULOSA, n.var. (Pl. i., f.41).

Lorica minute granulata; collo humillimo.

Long 25-28, lat. 11-14; coll. alt. 1, lat. 4 μ.

Botany 142.

Trach. pulcherrima is a close connection of *Trach. cylindrica*, from which it differs in the gently arched, not parallel, sides. It is also much more variable than that species.

TRACHELOMONAS VOLZII var. PELLUCIDA, n.var. (Pl. ii., f.1).

Lorica ut in forma typica, levis autem et pellucida, nec punctata nec granulata; candore carnoso pæne hyalino.

Long. 34, lat. 18 μ.

Botany 142; rarissime.

Lemmermann gives 32 × 15 μ, Dr. Volz gessam. süssw. Alg., p.166, T. xi., f.9. *Trach. Volzii* is ovate, broader behind than before, neck with pointed sides in optical section. The type is described as granulate (the figure, however, has a smooth outline) and yellow-brown in colour. Var. *pellucida* is pale buff, almost colourless, and neither punctate nor granulate. Only one specimen noted. It is a young form of var. *australis*, infra, with

which it is connected by var. *intermedia*. All three are stages of development.

Var. AUSTRALIS, n.var. (Pl. ii., fig.2).

Lorica levis, subovata, postice latior, collo quadrato valido semper instructa; parte majore corporis suboblonga, fronte usque ad collum attenuata, a tergo latissime-rotundata; collo ad basin annulo incrassato plerumque ornato.

Long. 34-38, lat. 16-20; coll. alt. 4, lat. 4 μ.

Botany, 108, 142, 152; Lismore 225, 240, 241.

This is the full-grown form of *Trach. Volzii*, and a very distinct type; the colour is generally a clear yellow.

Var. INTERMEDIA, n.var. (Pl. ii., f.3).

Lorica in ambitu ut in var. *australi* sed angustior, collo autem ad formam typicam potius pertinente.

Long. 34; lat. fronte 11, postice 15; coll. alt. 3, lat. 3 μ.

Botany 142. Cum forma typica.

I had var. *australis* down as a separate type (it is much more common than the other two forms) when I came across *Tr. Volzii* and this variation, both in the same gathering, showing unmistakably the connection of all three. Var. *intermedia* has the thin outer primordial membrane of the lorica stretched between the shoulder and the tip of the neck as in *Tr. Volzii*, type.

Var. CYLINDRACEA, n.var. (Pl. ii., f.21).

Lorica modice cylindracea, lateribus parallelis; a tergo laterotundata; a fronte conica, lateribus ad collum convergentibus; collo recto valido, annulo basali ornato, instructa; membrana levis.

Long. 34-38, lat. 16; coll. alt. 4-5, lat. 4 μ.

Centennial Park 133; Botany 152.

This form has not, so far, been noted at Lismore, but it is almost certain to turn up eventually. It lies between var. *intermedia* and var. *australis*. The latter is broader and more ovate.

TRACHELOMONAS EUCHLORA (Ehr.) Lemm., forma. (Pl. iii., f.1).

Lorica ovalis vel oblonga, semper autem minus rectangularis quam forma typica.

Long. 29-30, lat. 19-20; coll. alt. 5, lat. 4 μ.

Lismore 236, 237, 242, 245.

Syn., *Lagenella euchlora* Ehr., *Trachelomonas lagenella* Stein, *Chonemonas Schrankii* var. *glabra* Perty. The name *lagenella* is not admissible, having been used in a generic sense both by Ehrenberg and by Schmarda. Our forms are more rounded, less rectangular, than Stein's type,(Naturg. d. Flagell., H.i., T. xxii., f.14-16) which works out at 30 × 17 μ over all. The characteristic curved neck is still present, however. This form is rather local, apparently, as I have not observed it in any of the many rich gatherings from the suburbs of Sydney, but it is found sparsely distributed round Lismore, and is even frequent in Nos. 236 and 245. *Tr. similis* Stokes, Proc. Am. Phil. Soc., 1890, p.76, f.12, should be arranged here as *Tr. euchlora* var. *similis* (Stokes) mihi.

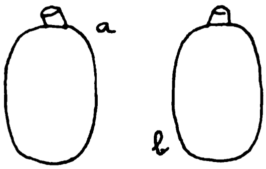


Fig. 4.—*Tr. euchlora* (Ehr. Lemm., × 650, after Stein.

Var. **MINOR**, n.var. (Pl. ii., f.4, 5).

Lorica levis, late-oblonga pæne quadrata, angulis late-rotundatis; a tergo interdum rotundata levissime attenuata; collo recto quadrato valido, ad basin annulo incrassato ornato.

Long. 18-23, lat. 15-18; coll. alt. 2-4, lat. 2-4 μ.

Botany 142, 151, 152; Canley Vale 110; Lismore, 225, 238, 241, 242, 245.

TRACHELOMONAS AMPULLULA, n.sp. (Pl. ii., f.6).

Lorica levis, subhexagona, medio lateribus pæne parallelis, extremis conica; collo quadrato recto, plerumque sine annulo basali, instructa.

Long. 24-30, lat. 10-16; coll. alt. 2-4, lat. 3 μ.

Canley Vale 110; Guildford 114; Botany 142; Parramatta 165, 166; Lismore 236, 237, 238.

A very distinct species with little or no variation in form or markings; some specimens are a little more markedly hexagonal than others, the sides more angular. The posterior end also is occasionally somewhat mammillate. It is the only form of *Tra-*

chelomonas that swims backwards, with the orifice and flagellum behind.

Var. MAJOR, n.var. (Pl. ii., f.7).

Lorica major, formæ typicæ similis, postice levissime retusa, mammillata; collo quadrato recto valido, plerumque annulo basali instructo.

Long. 34-41, lat. 15-18; coll. alt. 4-5, lat. 4 μ.

Botany 145; Lismore 263, 238, 241.

This larger form is rare round Sydney, but frequent in the neighbourhood of Lismore.

TRACHELOMONAS CONICA, n.sp. (Pl. ii., f.8, 9).

Lorica conica levis; parte anteriore subrectangulari, lateribus parallelis, angulis late-rotundatis; parte posteriore conica, lateribus levissime arcuatis, a tergo obtuse-rotundatis; collo nullo aut humillimo.

Long. 24-26, lat. 12-14; lat. oris 2-4; coll. alt. 1 μ.

Auburn 56; Botanic Gardens 3, 158; Guildford 146; Lismore 225, 238.

Always very uncommon in gatherings, though widely distributed; generally without a neck.

Var. GRANULATA, n.var. (Pl. ii., f.10).

Paullo major, minute granulata. Long, 36, lat. 12 μ.

Auburn 56. Cum forma typica.

Var. RICHMONDIÆ, n.var. (Pl. ii., f.11).

Lorica subelliptica angusta; polo anteriore late-rotundata, posteriore conica acuminata; spinis obtusis brevissimis (pæne granulis) ubique ornata; collo nullo.

Long. 34, lat. 14; lat. oris 4 μ.

Lismore 225. A river-form.

Var. OVATA, n.var. (Pl. ii., f. 12).

Lorica anguste-ovata, lateribus arcuatis; fronte late-rotundata, a tergo acuminata; ubique spinis brevissimis sparse ornata; collo humillimo.

Long. 37, lat. 18; coll. alt. 1, lat. 6; spin. long. ad 1½ μ.

Lismore 236.

Var. CAUDATA, n.var. (Pl. ii., f.13, 14).

Lorica inæqualiter elliptica, interdum extremum versus paullo latior, a tergo in caudam brevissimam truncatam protracta; collo nullo, ore lato; membrana spinis minutis sparsis ornata.

Long. 38-42, lat. 18-20 μ.

Lismore 236, 241.

TRACHELOMONAS CLAVATA, n.sp. (Pl. ii., f.15).

Lorica lageniformis, clavata, levis; parte anteriore conica, in collo longo recto ore everso producta; parte posteriore subrectangulari, ad basin truncatam levissime attenuata, lateribus fere rectis.

Long. 54, lat. 20; coll. alt. c. 10, lat. 4 μ.

Botanic Gardens 3.

A very rare form; the specimen observed had a very tenuous membrane absolutely hyaline.

Var. SUBARMATA, n.var. (Pl. ii., f.16).

Lorica ut in forma typica sed luteo-fusca et scrobiculata; polo posteriore spinis minutis paucis instructa.

Long. 60, lat. 26; coll. alt. 10, lat. 6 μ.

Botanic Gardens 137.

TRACHELOMONAS CACTACEA, n.sp. (Pl. ii., f.17).

Lorica ovalis fronte autem quam levissime attenuata, granulis minutis sparse ornata, collo humillimo.

Long. 38, lat. 23; coll. lat. 6 μ.

Botanic Gardens 150.

A very rare form, only once noted. There might possibly be some connection between it and *Trach. bulla* var. *regularis* Lemm., Dr Volz gess. Alg., T. xi., f.6, but the latter is hardly rightly placed as a variation of *Trach. bulla* Stein.

TRACHELOMONAS GRANULOSA, n.sp. (Pl. ii., f.18).

Lorica ovalis, interdum plus minusve acuminata, granulis minutis dense obtecta; collo humillimo aut nullo.

Long. 17-26, lat. 13-22 μ.

Guildford 146; Centennial Park 133; Canley Vale 110; Fairfield 143; Botanic Gardens 150; Auburn 135, 139, 148; Botany 142, 145, 151, 152; Lismore 240, 242.

Common and widespread. The puncta-granules are minute, and merely give the edge a sandy appearance. It is possible that the forms of this species, which are generally oval and more rarely subglobose, should be arranged as granulate variations of *Trach. intermedia* Dangeard. There is nothing specifically characteristic in the condition of the membrane; smooth, punctate, and granulate are merely three degrees of development due to the age of the infusorian, and probably also to the stagnation of its habitat. Each of them may (and often does) occur in unmistakable forms of the same species, e.g., *Tr. volvocina*, *Tr. pulcherrima*, *Tr. conica.*

Var. SUBGLOBOSA, n.var. (Pl. ii., f.19).

Lorica subglobosa. Long. 19-28, lat. 17-26 μ.

Botany 142, 151; Lismore 236, 245.

Var. OBLONGA, n.var. (Pl. ii., f.20).

Lorica late-oblonga sed non quadrata. Long. 24, lat. 20 μ.

Guildford 114.

TRACHELOMONAS AUSTRALIS, n.sp. (Pl. iii., f.2).

Lorica cylindracea, lateribus parallelis, polis late-rotundatis; vulgo collo nullo; minute dense granulata; candore carnoso.

Long. 24-30, lat. 14-18; lat. oris 4 μ.

Botanic Gardens 150; Canley Vale 110; Guildford 70, 146; Fairfield 79; Botany 142, 145, 151, 152; Lismore 238, 240.

This form has the same minute granulation as *Tr. granulosa*, but its cylindrical shape makes it very distinct. It differs also in colour, being generally pale biscuit-colour or buff, whereas *Tr. granulosa* is generally deep yellow, reddish-yellow, or dark red.

Var. OBESA, n.var. (Pl. iii., f.3).

Lorica præ forma typica latior, minus cylindracea, lateribus modice arcuatis nec planis.

Long. 28-34, lat. 20-25; lat. oris 4 μ.

Botanic Gardens 150; Parramatta Park 96; Fairfield 79; Botany 151; Lismore 236, 237.

Broader and less cylindrical than the type, with slightly arched sides. Its finer granulation alone distinguishes it from *Trach. hispida* var. *granulata.*

Var. SPLENDIDA, n.var. (Pl. iii., f.4).

Lorica dimidio præ forma typica longior, strictius cylindracea; polis magis truncatis.

Long. 45, lat. 20 μ. Botany 37.

Var. ARCUATA, n.var. (Pl. iii., f.5).

Lorica oblonga nec cylindracea; lateribus arcuatis nec deplanatis; polis late-rotundatis.

Long. 20-27, lat. 14-17 μ.

Botany 151; Lismore 236, 238.

Var. CONICA, n.var. (Pl. iii., f.6).

Lorica a tergo paullo conica. Long. 30, lat. 18 μ.

Guildford 146; Lismore 237.

Var. SUBDENTICULATA, n.var. (Pl. iii., f.7).

Lorica modice cylindracea, major quam forma typica; granulis minutis acuminatis (pæne denticulis) sparse ornata.

Long. 36, lat. 22 μ.

Lismore 240. Cum forma typica.

It is doubtful whether this form should be placed under *Tr. australis* or *Tr. hispida*, forms of the latter being granulate. Of the two, only *Tr. australis* accompanied it in No.240, so I have arranged it under that species.

TRACHELOMONAS HISPIDA (Perty) Stein. (Pl. iii., f.8).

Long. 26-29, lat. 19 μ, sine spinis.

Lismore 238.

According to Stein, *l.c.*, T. xxii., f.20-34, the type is oval or oblong, and covered with sharp-pointed spines. Such a form is extremely rare in our waters; I find it only in No.238, and sparsely distributed even there. The dimensions, however, agree exactly with those of Stein, whose figures work out at 29 x 20, 26 x 20, 26 x 17, 27 x 19 μ, &c. *Tr. crenatocollis* Maskell, (Trans. New Zealand Inst., Vol.19, n.s., 1886, Pl. iii., f.3) is an oval form of *Tr. hispida*, with square, straight neck crenate at the end, corresponding to Stein's figs. 21, 24. *Tr. piscatoris* (Fisher) Stokes, Infus. U. S., p.88, Pl. i., f.25 (*Laguncula piscatoris* Fisher, and *Laguncula Kellicottiana* Fisher, Proc. Amer. Micr. Soc., 1880) is the corresponding oblong form. If both are re-

tained, they should stand as *Tr. hispida* var. *crenatocollis* (Maskell), and *Tr. hispida* var. *piscatoris* (Fisher), respectively; the latter has priority. I have not found either here yet.

Var. AUSTRALICA, n.var. (Pl. iii., f.9).

Lorica ovalis vel oblonga, collo nullo, spinis obtusis bacillaribus dense obtecta.

Long. 32, lat. 22 μ; dimensiones etiam var. *granulatæ*, infra.

Guildford 45, 76.

A form of *Tr. hispida* a little larger than the type and characterised by short, blunt, bacillar spines set, as usual in this species, very close together, and showing at the edge (as Maskell observes of *Tr. crenatocollis*) "a continuous border of points." This would be the Australian type of the species, were it not so rarely found; as it is, that honour falls to the succeeding variety, of which var. *australica* is the fully developed spinous form.

Var. GRANULATA, n.var. (Pl. iii., f.11, 12).

Lorica crasse denseque granulata nec spinosa; collo nullo.

Long. 27-42, lat. 17-35 μ.

Botany 142, 145; Guildford 45, 77, 114; Centennial Park 133; Casino 189; Lismore 236, 237, 238, 241, 242, 245.

The prevailing type in this country; it is a form of var. *australica* in which the granules have not developed into the usual bacillar spines of that variety. Intermediate states exist, and, even in granular forms, the polar granules are very often produced as very short spines. The dimensions most commonly observed are, long. 30-34, lat. 20-24 μ. In shape, the lorica is oblong or oval-oblong, more rarely distinctly oval, dark brownish-yellow in colour.

Var. RECTANGULARIS Br. Schröder. (Pl. iii., f.10).

Lorica rectangularis, lateribus planis, apicibus truncatis vel rotundato-truncatis, angulis rotundatis, spinis *vel granulis* dense ornata.

Long. 31-36, lat. 18-20 μ.

Botany 37, 142; Centennial Park 133; Lismore 238.

Cf. Stein, *l.c.*, T. xxii., f.34; Schröder, Fischereiv. z. Trachenberg, T. ii., f.8. This form is closely connected with var. *aus-*

tralica and var. *granulata*. It is found here sometimes with short, blunt, bacillar spines as in the former, or coarsely granulate as in the latter. Even in Stein's figure the spines are noticeably blunter and more bacillar in shape than those of the typical form. Stein's figure works out at 38 × 16, Schröder's at 48 × 21, without spines. The spines in all these forms, as far as my observations go, are never over 2 μ long.

TRACHELOMONAS BACILLIFERA, n.sp. (Pl. iii., f.13).

Lorica subglobosa, spinis obtusis bacillaribus dense obtecta; collo nullo; colore plerumque obscuro.

Long. 35-40, lat. 32-38, sine spinis; sp. long. ad 2 μ.

Auburn 68; Guildford 114; Botanic Gardens 150; Centennial Park 133.

The spines in all forms of this species are of the same character as those in *Tr. hispida* var. *australica*, supra. The type-form is almost spherical, and almost always very dark in colour, generally dark red or dark reddish-orange.

Var. **OVALIS**, n.var. (Pl. iii., f.14).

Lorica late ovalis, spinis ut in forma typica.

Long. 38-42, lat. 32-34, sine spinis; sp. long. ad 2 μ.

Auburn 68; Guildford 114; Canley Vale 110; Lismore 254.

Var. **MINIMA**, n.var. (Pl. iii., f.15, 16).

Lorica subglobosa, oblonga vel ovalis, sed minor; spinis ut in forma typica.

Long. 22-28, lat. 18-26, sine spinis; sp. long. ad 2 μ.

Auburn 148; Coogee 4; Botany 151, 152; Lismore 237, 238, 242, 245.

TRACHELOMONAS SYDNEYENSIS, n.sp. (Pl. iv., f.15, 16).

Lorica elliptica, lateribus interdum quam levissime deplanatis, polis rotundatis; collo humillimo crenato vel spicato semper instructa; spinis acutis brevibus, vel denticulis (regione equatoriali plerumque denticulis) sparse ornata; colore vulgo carnoso vel dilute flavescente.

Long., collo incl., 32-45, lat 22-26, s. sp.; sp. long. ad 4 μ, vulgo 2 μ; coll. alt. 1-3, lat. 6-10 μ.

Auburn 57, 119, 140, 148, 149, 163; Guildford 45, 114, 146; Botany 92, 145; Canley Vale 110; Centennial Park 133; Botanic Gardens 137; Lismore 225, 241, 245, 254.

Common and widespread; quite distinct from *Tr. hispida*, and easily distinguished from it under the microscope. The lorica is elliptic or long-oval, sometimes slightly flattened at the sides, whereas *Tr. hispida* (here at any rate) is nearly always oblong or oval-oblong. Its colour is characteristic also, being generally a pale straw-colour, the membrane thin and transparent. *Tr. hispida* is nearly always dark yellow or red, the membrane incrassate. The spines in *Tr. Sydneyensis* are sharp-pointed but very sparsely distributed, so that they do not show at the margin the "continuous border of spines" characteristic of *Tr. hispida*. Moreover, the spines, as a rule (almost invariably), are nothing more than mere denticulations not above 2 μ long, and reduced towards the centre; out of 20 records, I have only one with longer spines. The neck is a low band, broader above, with a crenate or spicate margin, and is nearly always present; in *Tr. hispida*, it is consistently wanting; I have only one record in 28 of a collar (2 × 5 μ) in that species. The spines are occasionally bacillar in character, in which case the denticulations are represented by minute granules.

Var. OBLONGA, n.var. (Pl. iv., f.17).

Lorica oblonga ubique rotundata, cetera ut in forma typica.

Long. 46-48, lat. 34-36 μ, sine spinis.

Botany 151; Kyogle 218, 219.

Var. MINIMA, n.var. (Pl. iv., f.18).

Lorica minor, late-ovalis vel subglobosa, cetera ut in forma typica.

Long. 26-28, lat. 21-24, sine spinis; coll. lat. 4 μ.

Auburn 135, 140; Botany 151.

Var. OBESA, n.var. (Pl. iv., f.19).

Lorica exacte late-ovalis, præ longitudine latior quam in f. typica, fronte et a tergo spinis minutis acutis sparsis vestita, in medio spinis ad denticulos reductis; collo humillimo ore dentato; membrana translucente dilute luteola.

Long. 36, lat. 25-26; coll. alt. 2, lat. 7; spin. long. ad 2 μ.

Guildford 45; Lismore 245.

A broader oval than the type, with minute spines sparsely distributed at each end, but reduced to denticulations, or entirely wanting, towards the middle. Found in quantity in rainwater pools on grass-land; interspersed were many specimens entirely smooth.

TRACHELOMONAS ARMATA (Ehr.) Stein.

Chl. corpore ovato subgloboso, utrinque rotundato, fusco, ubique setis brevibus hispido, corona apiculorum postice nigra.

The above is Ehrenberg's description of his *Chætotyphla armata*; it indicates a broadly ovate lorica covered with short spines, and with a ring of short, somewhat stouter spines behind. Such a form, I have never seen, the nearest to it being var. *longispina*, infra, which differs from Ehrenberg's description only in the great length of the posterior spines.

Var. **GLABRA**, n.var. (Pl. iii., f.17).

Lorica oblonga vel ovale-oblonga, perfecte glabra interdum punctata, a tergo corona spinarum validarum ornata, inter coronam interdum paucis spinis minutis.

Long. corp. 34-46, lat. 28-34; spin. c. 10-16, long. 2-8 μ.

Botany 151; Guildford 114; Parramatta 96, 165, 166; Lismore 241, 242.

This is Stein's, T. xxii., f.37. Upon f.38, Lemmermann has founded *Tr. armata* var. *Steinii* Lemm., which is smooth, but with small scattered spines at the anterior end, besides the posterior ring of larger awns. *Cf.* Dr. Volz gess. süssw. Alg. p.165, where he gives the size as 29 μ long and 22 μ broad. This is somewhat smaller than any I have noted. Stein's figures measure 37 × 27 μ without spines, corresponding almost exactly to the smallest sizes here. Australian forms are invariably smooth or granulate; excepting the very rare var. *longispina* described below, I have never seen a specimen that could be described as hispid.

Var. GRANULATA, n.var. (Pl. iii., f.18).

Lorica crasse denseque granulata, spinis posterioribus plerumque parvis.

Long. corp. 38-44, lat. 30-34; spin. c. 9-14, long. ad 5 μ.

Guildford 114; Fairfield 143; Parramatta 165, 166; Lismore 242.

Very often found in company with var. *glabra*. The forms of *Tr. armata* are all of large size; the dimensions of all its variations are about the same, viz., 40-46 μ long and 30-35 μ broad, with occasional specimens as low as 34 x 28 μ and as high as 50 x 36 μ; the most common length, without spines, is 40 μ.

Var. SPARSIGRANOSA, n.var. (Pl. iii., f.19).

Lorica ut in f. typica, sed granulis vel spinis obtusis brevissimis sparsissime (polos versus densius) ornata, granulorum vice interdum denticulis.

Long. corp. 40-50, lat. 30-36; spin. c. 6, long. ad 6 μ.

Canley Vale 110; Guildford 114; Botanic Gardens 150; Lismore 236.

In this form, the short spines are merely elongated granules. Fairly dense at the poles, especially the anterior one, they become very scattered towards the equator, where they are reduced to granules.

Var. LONGISPINA, n.var. (Pl. iv., f.20).

Lorica ovata subglobosa, postice latior, ubique rotundata; spinis validis acutis brevibus ubique vestita, a tergo spinis gracilioribus; aculeis posterioribus magnis curvatis plerumque 4-6 instructa.

Long. corp. 43-44, lat. 32-34; spin. long. 5-6; acul. post. 4-10, long. ad 24 μ.

Botany 37; Botanic Gardens 137, 150.

Var. DUPLEX, n.var. (Pl. iii., f.20).

Lorica ovato-oblonga, postice paullo latior, crasse sparseque granulata, polum anteriorem versus glabra; fronte et a tergo corona spinulorum ornata, spinis anterioribus rectis obtusis bacillaribus circa 12, posterioribus longioribus acutis recurvatis circa 10, ad os dentibus 4; colore fusco.

Long. corp. 46, lat. max. 35; spin. anter. long. 8 μ, poster. 12 μ.

Lismore 240.

TRACHELOMONAS LISMORENSIS, n.sp. (Fig.5).

Lorica a vertice visa circularis, spinis radiantibus sparse ornata, ore minuto spinis minutis paucis circumcincto. A latere subglobosa, depressa, anteriore subplana, posteriore rotundata, spinis sparsis radiantibus, plerumque spinorum longiorum serie equatoriali singula. Colore atro luteo-fulvo.

Diam. corp. 20; spin. long. ad 4, oris diam. 2 μ.

Lismore 225.

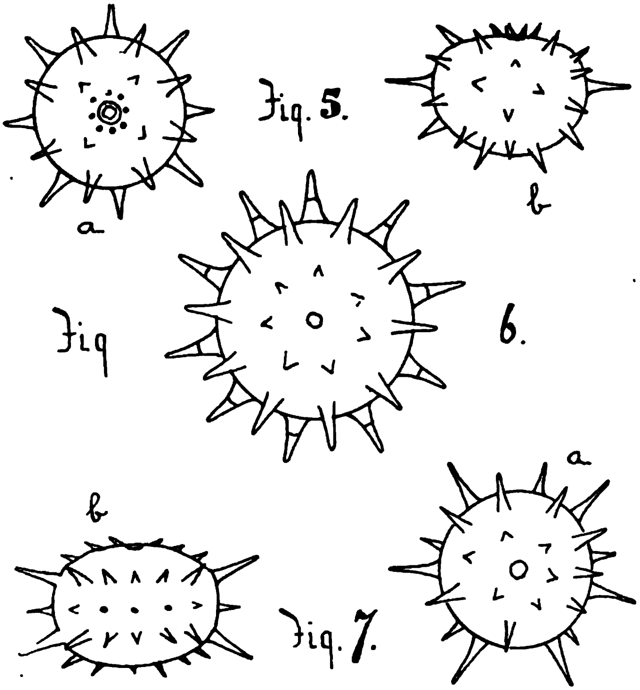


Fig.5.—*Trachelomonas Lismorensis*. Fig.6.—Var. *mirabilis*.
Fig.7.—Var. *biseriata*. All × 1000.

Var. **MIRABILIS**, n.var. (Fig.6).

Lorica vertice visa spinis validis circa 10 regularius ordinata, spinarum parte externa achroa. Cetera ut in f. typica.

Diam. corp. 26, spin. long. ad 6 μ.

Lismore 241.

I have not seen this form in side-view, so cannot determine whether it inclines to the type or to the next variation. It is a little larger than usual, the spines stouter and more regular; the inner third of the spines is the colour of the lorica, the outer part is colourless.

Var. BISERIATA, n.var. (Fig.7).

Lorica depresso-ovalis, ubique rotundata, spinis minutis sparse ornata, spinarum longiorum seriebus binis utrinque ad medium circumcincta.

Diam. corp. 20; sp. long. ad 6 μ.

Lismore 241.

In this species, the type seems to be a form of *Tr. volvocina* which has developed the posterior spines of *Tr. armata.* This variation reproduces the anterior and posterior series of *Tr. armata* var. *duplex.* The two rows of spines are, of course, close together, and this is evidence of the fact that the growth of the lorica takes place mainly in the equatorial region.

Var. INERMIS, n.var. (Pl. iii., f.21).

Lorica ut in forma typica sed spinis nullis.

Alt. circa 14-18, lat. 17-22 (rarissime 34) μ.

Auburn 139, 140; Botany 142, 151; Lismore 236, 237, 241.

I found this form in my Sydney gatherings (notably Auburn 140, in which it occurs plentifully) before I discovered the mature form at Lismore. The latter is very rare, even where it is to be observed at all. Var. *inermis* is very liable to be overlooked in gatherings. Resting, as it does, always on one end, it appears circular from above, and may be mistaken for *Tr. volvocina*, in company with which it is often found.

Var. OBLONGA, n.var. (Pl. iii., f.22).

Lorica ut in var. *biseriata*, sed spinis nullis.

Diam., vertice visa, 12; alt., a latere, 8 μ.

Guildford 70. Very rare.

A smooth form of var. *biseriata.* Although I have seen no intermediate forms, yet there is such a close agreement in the side-view of all these forms, that I must consider them variations of the same species.

TRACHELOMONAS VERRUCOSA Stokes. (Pl. iv., f.1).

Lorica globosa, minutis papillis achrois sparse ornata; collo nullo.

Diam. 18 μ. Lismore 225; very rare.

Cf. Stokes, Infus. U. S., p.88. He gives diam. 24 μ. It should, perhaps, be arranged as a variation of *Tr. volvocina*, but I have seen only one specimen.

TRACHELOMONAS SCABRA, n.sp. (Pl. iv., f.2, 3).

Lorica ovalis æqualiter rotundata vel postice acuminata; collo lato brevissimo; membrana scabra non autem ordine granulata.

Long. 29-33, lat. 20; coll. alt. 2-4, lat. 4-5 μ.

Lismore 238, 242.

This species is very distinct; all its forms are easily recognised by the characteristic membrane. The surface is rough all over, not with granules but with minute protuberances irregularly disposed. The colour is generally pale yellow.

Var. **LONGICOLLIS**, n.var. (Pl. iv., f.4-6).

Lorica et membrana ut in forma typica, collo autem longissimo, recto vel obliquo vel curvato, interdum ore everso.

Long. 29-33, lat. 19; coll. alt. 6-7, lat. 3-5, lat. oris 6 μ.

Lismore 238.

Var. **OVATA**, n.var. (Pl. iv., f.7, 8).

Lorica ovata, anteriore ovalis, posteriore acuminata, extremo producta conica; collo quadrato vel brevissimo.

Long. 34-46, lat. 20-22; coll. alt. 2-6, lat. 5-6; caud. long. 4-6, lat. 3-4 μ.

Lismore 237, 238, 241.

Var. **SCROBICULATA**, n.var. (Pl. iv., f.9).

Lorica ut in var. *ovata*, glabra autem et crasse scrobiculata pæne reticulata; collum interdum annulo basali instructum.

Long. 36-42, lat. 20-22; coll. alt. 3-4, lat. 4-6; caud. long. 2-5 μ.

Lismore 236.

The outline in this form is smooth, showing that the surface is level, but the membrane itself is so perforated with wide scrobiculæ as to be almost reticulated.

Var. ELLIPTICA, n.var. (Pl. iv., f.10).

Lorica elliptica, a tergo acuminata; collo brevissimo plerumque obliquo; membrana scabra.

Long. 31, lat. 16; coll. alt. 2, lat. 7 μ.

Lismore 242.

Var. CORDATA, n.var. (Pl. iv., f.11).

Lorica cordata, a tergo acuminata; collo brevissimo recto.

Long. 21, lat. 18; coll. alt. 2, lat. 3-4 μ.

Lismore 242.

Var. PYGMÆA, n.var. (Pl. iv., f.21).

Lorica ovalis, a tergo in caudam brevissimam truncatam producta; collo lato humillimo; membrana inæqualiter scabra.

Long. 34-35, lat. 18-20; coll. alt. 2-3, lat. 9-10 μ.

Wyrallah, mere on grass-land.

TRACHELOMONAS EURYSTOMA Stein, forma. (Pl. iv., f.12).

Lorica quam in f. typica magis rotundata, a tergo minus acuminata; collo paullo breviore, emarginato haud sulcato; membrana subtilissime et oblique striata, striis interdum undulatis; colore dilute fusco.

Long. 26, lat. 19; coll. alt. 1, lat. 9 μ.

Lismore 244.

Cf. Stein, Naturg. d. Flag., H. 1, Pl. xxii., f.35, whose figure measures 31 x 21. The form found here has a shorter neck, not sulcate, and with emarginate edge, the mouth not quite so wide. The lorica is pale brown, sometimes with a purple tinge, and is finely and faintly striate obliquely downwards from right to left, not *vice versâ*, as in Euglena and Lepocinclis. The striæ are lines of partly coalesced scrobiculæ.

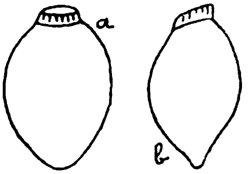


Fig. 8. — *Tr. eurystoma* Stein, x 650, after Stein.

Var. PRODUCTA, nom.nov. (Pl. iv., f.13).

Forma a tergo producta, conica, acuminata. *Cf.* Stein, *l.c.*, f.36.

Long. 27, lat. 18; coll. alt. 1, lat. 6 μ.

Lismore 244, cum priori.

Var. Klebsii mihi. (Pl. iv., f.14).

Lorica ovata, a fronte rotundata, a tergo modice acuminata, oblique striata; collo nullo.

Long. 24-26, lat. 18; lat. oris 6 μ.

Lismore 244, cum prioribus duabus; 245.

Syn. *Tr. reticulata* Klebs, Organiz. ein. Flag., 1885, *cf.* Dangeard, Les Eugléniens, p.137, f.43. The name *reticulata* is unsuitable, as probably the type is reticulate also. Stokes' *Tr. obovata*, New Frw. Infus., Amer. Philosoph. Soc., 1890, p.76, f.13, is also almost certainly a form of this species; if it is really hispid, it might stand as var. *Stokesii* mihi, the type being just as much obovate. It is possible, however, that it is the same as *Tr. reticulata* Klebs, and the hispid appearance due to pores running through the walls of the lorica. The inner margin of the membrane is often very distinct, while the outer edge is extremely vague; the pores then show as fine granules or setæ upon what appears to be the surface.

TRACHELOMONAS CAUDATA var. AUSTRALICA, n.var. (Pl. v., f.1, 2).

Lorica ut in forma typica, corpore autem breviore, spinis nullis, membrana aspera.

Long. 62-96, lat. 18; coll. long. 14-20, lat. 5; caud. long. 18-30, lat. max. 4-6 μ.

Lismore 238. Wyrallah, mere on grass-land.

This is the nearest I have seen to Stein's *Tr. caudata*, l.c., Pl. xxii., f.39, 40. It has an entirely different surface, lacking the spines, and the body is shorter in proportion to the total length. Stein's f.40 agrees perfectly in general dimensions, working out at long. 64 (neck 9, body 41, tail 14), lat. 18½ μ. The slender form of the same breadth was found at Wyrallah, alive. It is a genuine *Trachelomonas*.

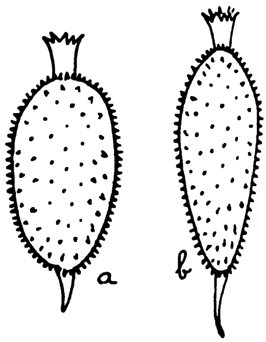


Fig. 9.—*Tr. caudata* (Ehr.) Stein, × 650, after Stein.

TRACHELOMONAS ACUMINATA var. **AMPHORA**, n.var. (Pl. v., f.3).

Lorica, ut in forma typica, corpore inferne latissimo sed lateribus late-rotundatis nec angulatis, ad collum sensim convergentibus.

Long. 46, lat. 28 ; coll. alt. 8, lat. 6 ; caud. long. 6 μ.

Parramatta 136.

Like the type, *Tr. acuminata* (Schmarda) Stein, *l.c.*, f.43, this form is smooth and broadest below, but it is regularly rounded at the sides, not angular. Also it shows the square neck with everted rim which is characteristic of these tailed varieties of *Trachelomonas*. Schmarda's form has an obliquely sliced-off neck. The figure given by Stein measures 55 x 32 μ.

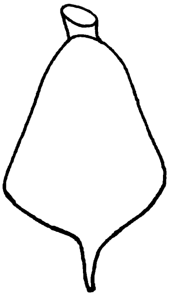


Fig. 10.
Tr. acuminata (Schmarda) Stein, x 650, after Stein.

TRACHELOMONAS URCEOLATA Stokes, forma, (Pl. v., f.4),

Forma longior, corpore inferne modice attenuato; collo paullo oblique truncato; cauda paullulo oblique protracta.

Long. 54, lat. 20; coll. alt. 8, lat. 4; caud. long. 15 μ.

Parramatta 136.

Cf. Stokes, Frw. Infus. U. S., p.89, Pl. i.,f. 26. This is merely an irregular (probably growing) form of the type. The latter has an oblong body, not tapering to either end, with somewhat flattened sides. Size 44 x 20, Stokes.

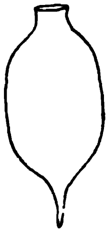


Fig. 11.
Tr. urceolata Stokes, after Stokes.

Var. **OVALIS**, n.var. (Pl. v., f.5, 6).

Forma corpore ovali nec oblongo, lateribus rotundatis nec deplanatis; collo breviore, ore modice everso; cauda brevi interdum brevissima.

Long. 34-37, lat. 22; coll. alt. 4-6, lat. 6; caud. long. ad 6 μ.

Parramatta 136, 165, 166.

The tail in this form is only about one-third the usual length, and is sometimes reduced to a mere broad, triangular projection.

Var. Girardiana, n.var. (Pl. v., f.7, 8).

Lorica corpore a latere subhexagono, a vertice circulari; lateribus objectis parallelis, planis vel interdum levissime retusis; collo modo brevi, ore obliquo, modo longo recto truncato, ore minute denticulato. Membrana aspera.

Long. 38-57, lat. 22-26; coll. alt. 4-6, lat, 6-8; caud. long. 16 μ.

Lismore 242.

There is some doubt whether this form should be placed under *Tr. ureeolata*, as it comes from a different part of the country, and the membrane is distinct. The latter is irregularly and minutely rough, due probably to depressed scrobiculations, as in *Tr. scabra*, supra. Obtained from swampy ground at the foot of Girard's Hill.

Trachelomonas elegantissima (G. S. West) mihi.

Syn. *Dinobryon elegantissimum* G. S.. West, Yan Yean Res., p.82, fig.10K; *Trach caudata* var. *elegantissima* Playf., Sydney Water Supply, p.546.

From the figure of *Tr. caudata* given by Stein in his Naturgeschichte der Flagellaten, a copy of which has lately come into my hands, it appears that there are too many points of difference for this form to be conveniently arranged as a variation of *Tr. caudata* (Ehr.) Stein. I have made it, therefore, a separate type. West's dimensions are :—Long. (sine stip.) 34; long. stip. 28; lat. max. 13, lat. coll. 4, lat. oscul. 7·5 μ.

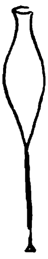


Fig. 12. *Tr. elegantissima* (G. S. West), × 1000, after West.

Var. ovata, nom.nov. (Pl. v., f.9).

Minor quam forma typica, corpore ovato, superne rotundato, inferne acuminato lateribus pæne planis ad stipitem convergentibus; collo quadrato, lateribus parallelis, ore everso.

Long. 38, lat. 9 μ.

Sydney Water screenings.

Syn. *Trach. caudata* var. *elegantissima* Playf., *l.c.*, Pl.57, f.11. The Victorian form, which I have not yet noted here, is somewhat different in shape from mine; I am, therefore, describing the latter as a variation.

TRACHELOMONAS NAPIFORMIS, n.sp. (Pl. v., f.10).

Lorica corpore ovato, fronte rotundato, a tergo acuminato lateribus modice arcuatis; stipite nullo sed cauda brevi instructa; collo quadrato, lateribus parallelis, ore everso. Primum caudâ extremâ affixa, deinde exsoluta.

Long. 34, lat. 18; coll. alt. 8, lat. 6; caud. long. 6 μ.

Parramatta 136.

All these tailed varieties are plankton-forms. *Tr. napiformis* and all others in sample No.136, were obtained from a body of freshwater in Parramatta Park, by passing several gallons of water through filter-paper. Many specimens of this form were noted firmly fixed by the point of the tail, others were swimming free. Syn., *Tr. caudata*, these Proceedings, 1913, Pl.57, f.10.

Forma.

Forma lateribus ad caudam convergentibus pæne planis; çauda brevissima, triangulari; collo oblique truncato nec ore everso; colore pæne hyalina.

Long. 36, lat. 22; coll. alt. 4, lat. 7 μ.

Botany 151.

Var. ELEGANS, n.var. (Pl. v., f.11).

Major quam f. typica, corpore ovato superne valde angulato, lateribus arcuatis, paullo supra caudam quam levissime angulatis, ad caudam convergentibus; collo quadrato lateribus modice retusis, ore everso valde producto; colore dilutissime fulva.

Long. 60 (corp. 40), lat. 30; coll. alt. 8, lat. 8, lat. oris. 16; caud. long. 12 μ.

Duck Creek near Clyde

Several specimens observed in a sample obtained by filtering a considerable volume of water.

TRACHELOMONAS SESSILIS, n.sp. (Pl. v., f.12).

Lorica corpore late-ovato pæne triangulari, superne latissimo, abhinc lateribus rapide ad basin convergentibus, inferne acute-rotundato, cauda nulla; collo longo recto, lateribus parallelis, ore everso; colore dilutissime fulva; primum sessilis.

Long. 26, lat. 20; coll. alt. 8, lat. 6 μ.

Parramatta 136.

Var. MINIMA, n.var. (Pl. v., f.13).

Forma minima nec ore everso.

Long. 9, lat. 5 μ.

Fairfield.

Noted in a gathering squeezed out of Myriophyllum in Orphan School Creek.

Var. ELEGANS, n.var. (Pl. v., f.14).

Lorica corpore breviore quam in var. *minima*; collo autem longiore, ore everso valde producto; basi per papillam affixa.

Long. 13, lat. 5½ μ.

Guildford 88.

TRACHELOMONAS TRIQUETRA, n.sp. (Pl. v., f.15).

Lorica corpore superne exacte rectangulari lateribus rectis parallelis, inferne acuminato lateribus planis rapide ad caudam convergentibus; collo recto brevi; cauda brevi; membrana tenui scrobiculata(?). Lorica a vertice triquetra.

Long. 40, lat. 20 μ.

Parramatta 136.

Several of this shape seen alive among a great variety of other tailed forms (Parramatta 136). All these plankton-forms of *Trachelomonas* have thin transparent membranes, dull and rather irregular in texture (scrobiculate?) and are all very pale-coloured, pale brown, biscuit or flesh-colour.

TRACHELOMONAS GIBBEROSA, n.sp. (Pl. v., f.16-18).

Lorica inflata rhomboidea, utrinque valde angulata, in medio latissima, lateribus superne ad collum inferne ad caudam rapide convergentibus, pæne rectis; collo plerumque oblique truncato interdum ore everso; cauda acutissima; membrana hyalina vel dilutissime fulva.

Long. 32-56, lat. 16-30; coll. alt. 8, lat. 6-7; caud. long. ad 20 μ.

Parramatta 136, 165, 166. Auburn 120.

Almost all the tailed forms of *Trachelomonas* may be found now and again with obliquely truncate necks.

Var. **ROTUNDATA**, n.var. (Pl. v., f.19).

Lorica corpore utrinque inflato, depresso, lateribus æqualiter rotundatis; collo quadrato ore everso; cauda obtusa subito e basi corporis oriente.

Long. 28, lat. 17; coll. alt. 8, lat. 6; caud. long. 10, lat. max. 4 μ.

Parramatta 136.

TRACHELOMONAS SUBGLOBOSA, n.sp. (Pl. v., f.20, 21).

Lorica inæqualiter subglobosa, fronte leviter deplanata, interdum inferne levissime acuminata; collo lato humillimo; membrana interdum scrobiculata, dilutissime fulva.

Long. 22-26, lat. 22; coll. alt. 2, lat. 6-8 μ.

Parramatta 136; Duck Creek near Clyde.

In spite of its obvious likeness to *Tr. oblonga* var. *australica*, this "species" is biologically connected with the tailed forms described above, in company with which the two specimens figured were found. All these forms have a tendency to be slightly irregular in outline, and this may be noted here also. The membrane, too, is similar, and the acuminate character of the hinder end in Fig.20 points in the same direction.

List of Synonyms.

Tr. reticulata Klebs., Organ. ein. Flag., p.320, 1881-85, = *Tr eurystoma* var. *Klebsii* mihi. The name "*reticulata*" being unsuitable in a variation.

Tr. crenatocollis Maskell, Trans. N. Zeal. Inst., 1886, Pl.3, f.3, = *Tr. hispida* var. *crenatocollis* (Maskell) mihi; *cf.* Stein, *l.c.*, T.xxii., f.24; Dangeard, Les Eugléniens, p.135, f.41A.

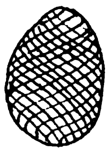


Fig. 13.

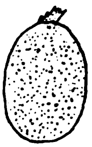


Fig. 14.

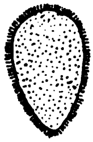


Fig. 15.

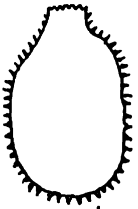


Fig. 16.

Fig.13.—*Tr. torta* Stokes. Fig.14.—*Tr. euchlora* var. *similis* (Stokes) mihi. Fig.15.—*Tr. eurystoma* var. *Stokesii* mihi. Fig.16.—*Tr. hispida* var. *piscatoris* (Fisher) mihi. All after Stokes.

Tr. torta Kellicott, in Stokes, Infus. U. S., p.87, Pl.1, f.24, 1888 = *Crumenula texta* Duj., = *Euglena viridis* larval form, *cf.* Stein, T. xx., f.26. Stokes, in his figure, has put in the striæ from both sides of the test; there is only one set of striæ, as shown by Stein. I have often found these empty tests in mixed gatherings.

Tr. piscatoris (Fisher) Stokes, Journ. Trenton Nat. Hist. Soc., 1886; Infus. U. S., p.88, Pl.1, f.25, 1888 (*Laguncula piscatoris* Fisher, Proc. Amer. Soc. Micr., 1880), = *Tr. hispida* var. *piscatoris* (Fisher) mihi.

Tr. cervicula Stokes, Proc. Amer. Phil. Soc., p.75, f.11, 1890, = *Tr. volvocina* var. *cervicula* (Stokes) mihi.

Tr. similis Stokes, *ibid.*, p.76, f.12, = *Tr. euchlora* var. *similis* (Stokes) mihi.

Tr. obovata Stokes, *ibid.*, p.76. f.13 = *Tr. eurystoma* var. *Stokesii* mihi. The name "*obovata*" is unsuitable in the variation, as the type itself and var. *Klebsii*, supra, are both obovate.

Tr. volvocina var. *minuta* Lemm., Bot. Centralblatt, Bd. 76, p.152, 1898. Size not known, has probably been included here with the type.

Tr. lagenella Dangeard, Les Eugléniens, p 132, f.40, 1902 (not Ehrenberg nor Stein), = *Tr. ovalis* Playf., Biol. Richm. R., p.141, Pl. viii., f.4; but cf. *Tr. teres* Maskell. The decided neck, generally slanting, is characteristic of *Tr. euchlora* (*lagenella*). Such forms as depicted by Dangeard are just as likely to be smooth forms of *Tr. hispida* (Stein, T. xxii., f.23), or *Tr. armata* or *Tr. teres* Maskell, without a neck. It is best to keep such forms by themselves where possible.

Forms not yet observed here.

The exact types were not observed of *Tr. euchlora* (*lagenella*) (Ehr.) Lemm., *Tr. armata* (Ehr.) Stein, *Tr. caudata* (Ehr.) Stein, *Tr. acuminata* (Schmarda) Stein, *Tr. bulla* Stein, *Tr. eurystoma* Stein, *Tr. urceolata* Stokes, *Tr. Volzii* Lemm., *Tr. elegantissima* (G. S. West) mihi, but only very similar forms.

Tr. volvocina β *rugulosa* (Stein) Klebs, = *Tr. rugulosa* Stein, *l.c.*, f.12, 13. *Cf.* Dangeard, *l.c.*, p.128, f.39. A form of *Tr. volvocina* with minute ridges in slanting lines across the surface.

Dangeard's form is so entirely different from Stein's *Tr. rugulosa*, that I propose to make it a distinct variety under the name of *Tr. volvocina* var. *Dangeardii*, nom.nov.

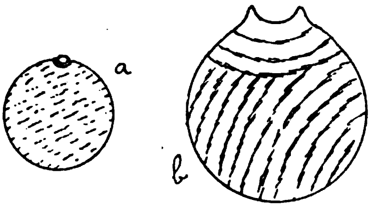


Fig. 17.—*Tr. volvocina* β *rugulosa* (Stein) Klebs. *a* × 650, after Stein; *b*, after Dangeard.

Tr. volvocina γ *hyalina* Klebs, Organ.ein. Flag., p.319. The body of the animalcule is devoid of chlorophyll.

Tr. hispida β *cylindrica* Klebs, *l.c.*; *cf.* Dangeard, *l.c.*, p.135 (no figure). This must be a smaller form of *Tr. hispida* var. *rectangularis* Br. Schröder, Plöner Berichte, Bd. v., T.ii., f.8; Stein, T.xxii., f.34. As Dangeard remarks that it is much smaller than the type, the dimensions of which are roughly 30 × 20 μ, it must be quite minute.

Tr. hispida var. *subarmata* Br. Schröder, *l.c.*, p.49, T.1, f.7. A broadly oval form a little larger than the type, with longer spines at each end. Schröder's figure gives dimensions of 37 × 29 μ,

Tr. hispida var. *punctata* Lemm., von Dr. Volz ges. Süsswasseralg., p.165, 1904 (no figure). Oval, closely and finely punctate, with a low, straight, truncate neck.

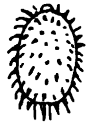


Fig. 18.

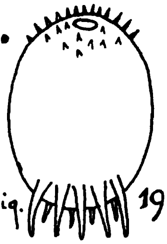


Fig. 19.

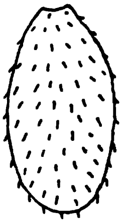


Fig. 20.

Fig. 18.—*Tr. spinosa* Stokes, after Stokes. Fig. 19.—*Tr. armata* var. *Steinii* Lemm., × 650, after Stein. Fig. 20.—*Tr. bulla* var. *regularius* Lemm., × 1000, after Lemmermann.

Tr. bulla var. *regularius* Lemm., *ibid.*, T.xi, f.6. Long elliptic, 30 × 14 μ, with numerous, very short scattered spines, no neck

I doubt whether this form is best arranged under *Tr. bulla* Stein. The characteristics of the latter are all wanting, viz., the ovate body, long neck, and smooth (or very slightly denticulate) membrane. *Tr. bulla* itself, indeed, is of very doubtful validity, and were it not for the fact that its forms are generally smooth, it would probably before this have been arranged as a tail-less variant of *Tr. caudata*. Lemmermann's form goes best under *Tr. spinosa* Stokes, *infra*; note that in both forms, and in these two only, all the spines point backwards.

Tr. oblonga var. *truncata* Lemm., *ibid.*, T. xi., f 7, 8; Reise n.d. Pacific, p.344, 1899. Lorica oblong, 12-13 μ long, 11 μ broad, truncate in front, squarely rounded below, with a short straight truncate neck, membrane smooth.

Tr. acanthostoma Stokes, Infus. U. S., p.89, no fig., 1888; Proc. Amer. Phil. Soc., 1887. Lorica subspherical, brown, two or more irregular rows of short conical spines round the orifice, no neck, membrane punctate, length 36 μ.

Tr. spinosa Stokes, Proc. Amer. Phil. Soc., 1890, p.76, f.14. Lorica oval, 1⅓ times as long as broad; ends equally and evenly rounded; spines slightly recurved, pointing backwards, longest posteriorly; neck short, smooth, truncate, slightly narrowed above; length 42 μ. The recurved spines, pointing backwards, are characteristic of this type; cf. *Tr. bulla* var. *regularius* Lemm, *supra*.

Tr. teres Maskell, Trans. N. Zeal. Inst., 1887, T.1, f.7. Oblong-oval, smooth, with a low broad ring-shaped neck; length 35 μ, breadth about 20 μ. Very like *Tr. lagenella* Dangeard (non Stein), *l.c.*, p.132, f.40E, but with a low broad neck.

Tr. armata var. *Steinii* Lemm., see note on *Tr. armata* var. *glabra* supra.

EXPLANATION OF PLATES I.-V.

All figures enlarged 1000 diams., unless otherwise specified.

Plate i.

Fig. 1.—*Trachelomonas volvocina* Ehr.
Fig. 2. ,, ,, var. *punctata*, n. var.
Fig. 3. ,, ,, var. *granulosa*, n. var.

Fig.4.—	*Trachelomonas*	*volvocina* var. *cervicula* (Stokes) mihi.
Fig.5.	,,	*intermedia* Dangeard.
Figs.6-8.	,,	,, var. *levis*, n.var.
Fig.9.	,,	*Botanica*, n.sp.; (×660).
Fig.10.	,,	,, var. *minor*, n.var.; (×660).
Fig.11.	,,	*ovalis* Playf.
Fig.12.	,,	,, var. *minor*, n.var.
Fig.13.	,,	*bulla* var. *australis*, n.var.
Figs.14-16.	,,	*oblonga* Lemm.
Figs.17-21.	,,	,, var. *australica*, n.var.
Figs.22, 23.	,,	,, var. *attenuata*, n.var.; (Fig.23×1330).
Fig.24.	,,	,, var. *scabra*, n.var.
Fig.25.	,,	*pusilla*, n.sp.
Fig.26.	,,	,, var. *rotunda*, n.var.
Fig.27.	,,	,, var. *punctata*, n.var.
Figs.28, 29.	,,	*cylindrica* Ehr.
Fig.30.	,,	,, var. *decollata*, n.var.
Fig.31.	,,	,, var. *punctata*, n.var.
Figs.32, 33.	,,	*pulcherrima*, n.sp.
Figs.34, 35.	,,	,, var. *latior*, n.var.
Fig.36.	,,	,, var. *ovalis*, n.var.
Figs.37, 38.	,,	,, var. *minor*, n.var.
Figs.39, 40.	,,	,, var. *Lismorensis*, n.var.
Fig.41.	,,	,, var. *granulosa*, n.var.

Plate ii.

Fig.1.—	*Trachelomonas*	*Volzii* var. *pellucida*, n.var.
Fig.2,	,,	,, var. *australis*, n.var.
Fig 3.	,,	,, var. *intermedia*, n.var.
Figs.4, 5.	,,	*euchlora* var. *minor*, n.var.
Fig.6.	,,	*ampullula*, n.sp.
Fig.7.	,,	,, var. *major*, n.var.
Figs.8, 9.	,,	*conica*, n.sp.
Fig.10.	,,	,, var. *granulata*, n.var.
Fig.11.	,,	,, var. *Richmondiæ*, n.var.
Fig.12.	,,	,, var. *ovata*, n.var.
Figs.13, 14.	,,	,, var. *caudata*, n.var.
Fig.15.	,,	*clavata*, n.sp.
Fig.16.	,,	,, var. *subarmata*, n.var.
Fig.17.	,,	*cactacea*, n.sp.
Fig.18.	,,	*granulosa*, n.sp.
Fig.19.	,,	,, var. *subglobosa*, n.var
Fig.20.	,,	,, var. *oblonga*, n.var.
Fig.21.	,,	*Volzii* var. *cylindracea*, n.var.

Plate iii.

Fig.1.—*Trachelomonas euchlora* (Ehr.) Lemm., forma.
Fig.2. ,, *australis*, n.sp.
Fig.3. ,, ,, var. *obesa*, n.var.
Fig.4. ,, ,, var. *splendida*, n.var.; (×660).
Fig.5. ,, ,, var. *arcuata*, n.var.
Fig.6. ,, ,, var. *conica*, n.var.
Fig.7. ,, ,, var. *subdenticulata*, n.var.
Fig.8. ,, *hispida* (Perty) Stein, type.
Fig.9. ,, ,, var. *australica*, n.var.
Fig.10. ,, ,, var. *rectangularis* Br. Schröder.
Figs.11, 12. ,, ,, var. *granulata*, n.var.
Fig.13. ,, *bacillifera*, n.sp.; (×750).
Fig.14. ,, ,, var. *ovalis*, n.var.; (×750).
Figs.15, 16. ,, ,, var. *minima*, n.var.; (×660).
Fig.17. ,, *armata* var. *glabra*, n.var.; (×750).
Fig.18. ,, ,, var. *granulata*, n.var.; (×750).
Fig.19. ,, ,, var. *sparsigranosa*, n.var.; (×750).
Fig.20. ,, ,, var. *duplex*, n.var.; (×660).
Fig.21. ,, *Lismorensis* var. *inermis*, n.var.
Fig.22. ,, ,, var. *oblonga*, n.var.; (×850).

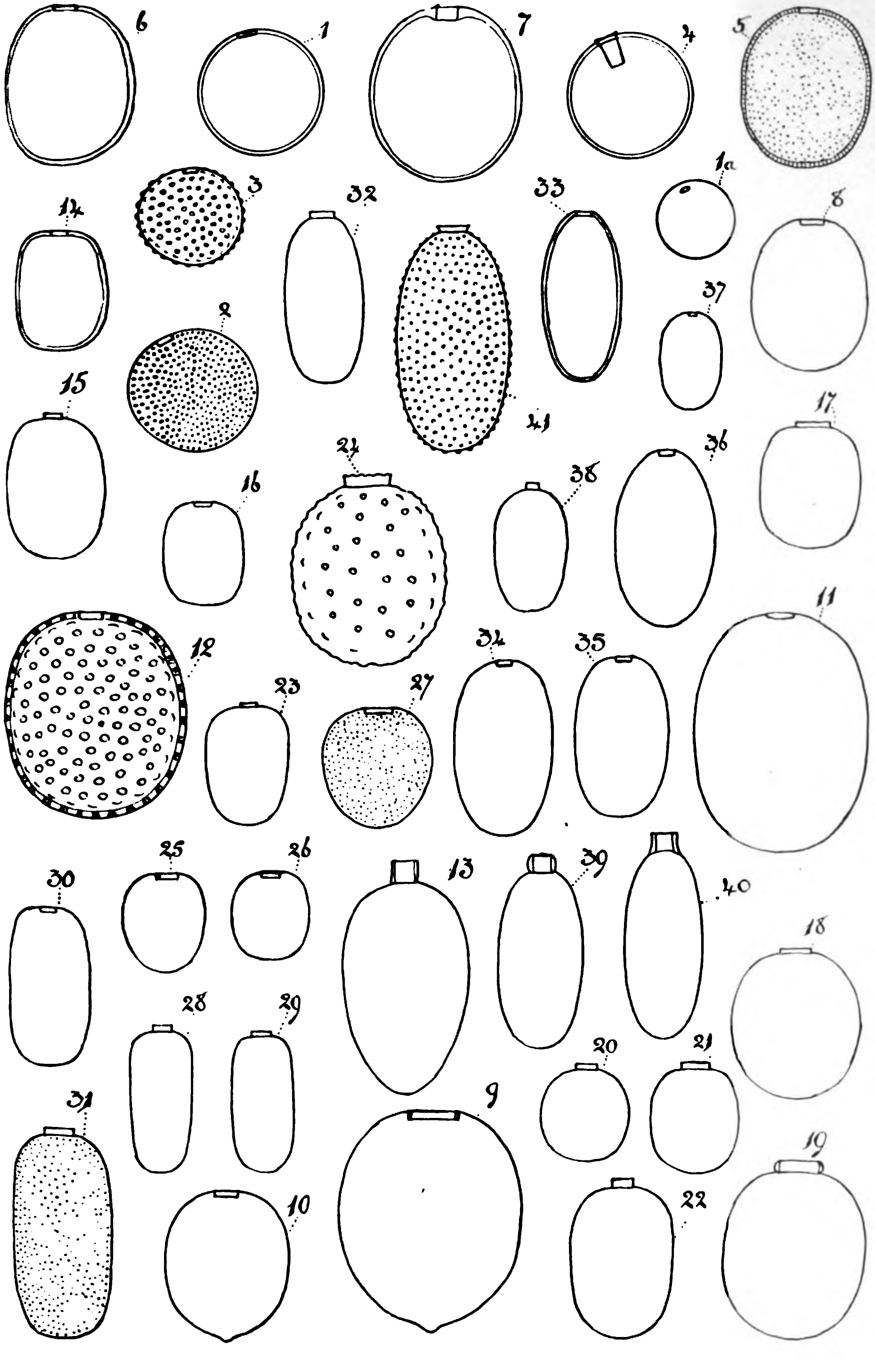
Plate iv.

Fig.1.—*Trachelomonas verrucosa* Stokes.
Figs.2, 3. ,, *scabra*, n.sp.
Figs.4-6. ,, ,, var. *longicollis*, n.var.
Figs.7, 8. ,, ,, var. *ovata*, n.var.
Fig.9. ,, ,, var. *scrobiculata*, n.var.
Fig.10. ,, ,, var. *elliptica*, n.var.
Fig.11. ,, ,, var. *cordata*, n.var.
Fig.12. ,, *eurystoma* Stein, forma.
Fig.13. ,, ,, var. *producta* mihi.
Fig.14. ,, ,, var. *Klebsii* mihi.
Figs.15, 16. ,, *Sydneyensis*, n.sp.
Fig.17. ,, ,, var. *oblonga*, n.var.
Fig.18. ,, ,, var. *minima*, n.var.
Fig.19. ,, ,, var. *obesa*, n.var.
Fig.20. ,, *armata* var. *longispina*, n.var.
Fig.21. ,, *scabra* var. *pygmæa*, n.var.

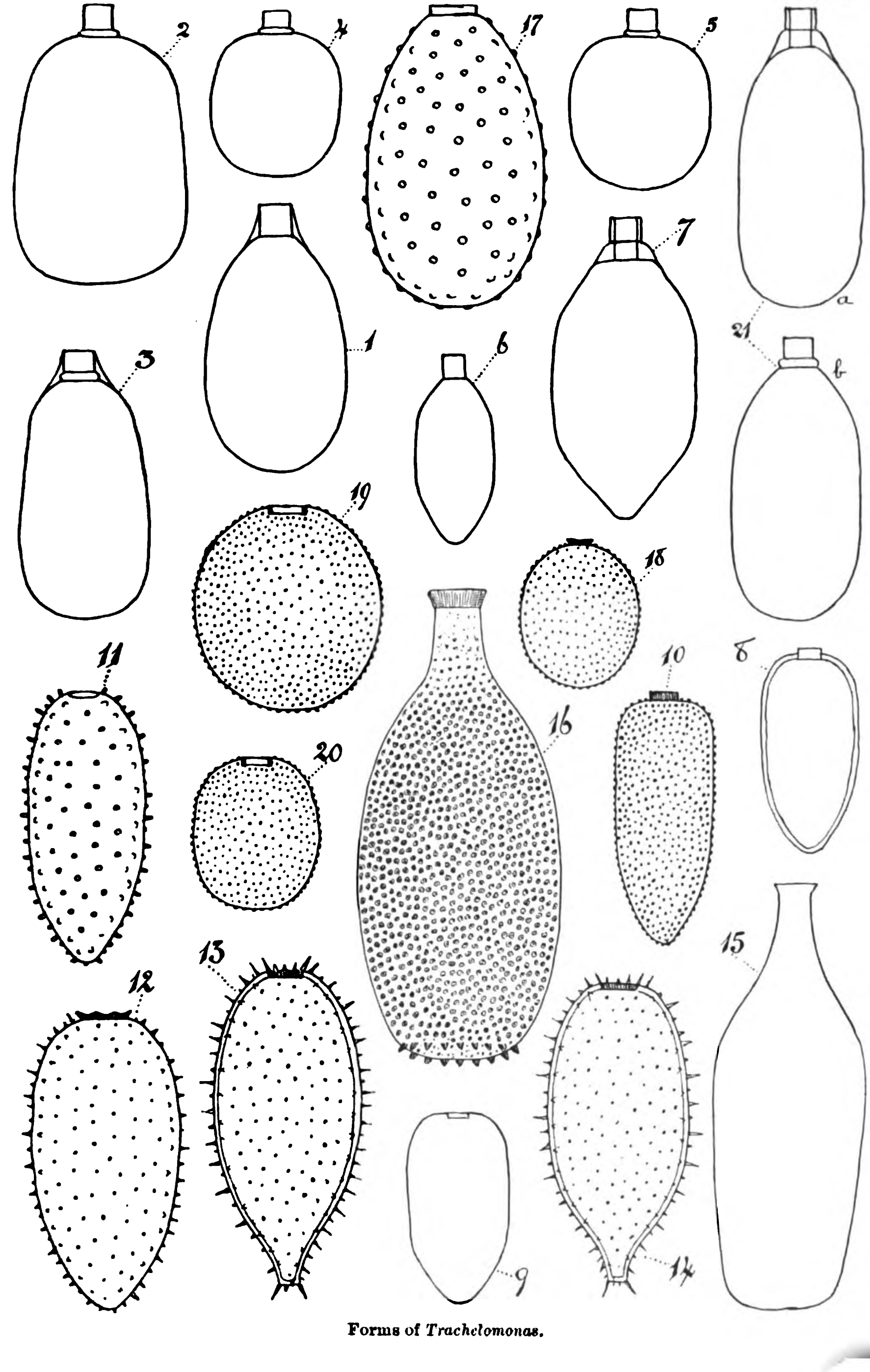
Plate v.

Figs.1, 2.—*Trachelomonas caudata* var. *australica*, n.var.;(×660).
Fig.3. ,, *acuminata* var. *amphora*, n.var.
Fig.4. ,, *urceolata* Stokes, forma.

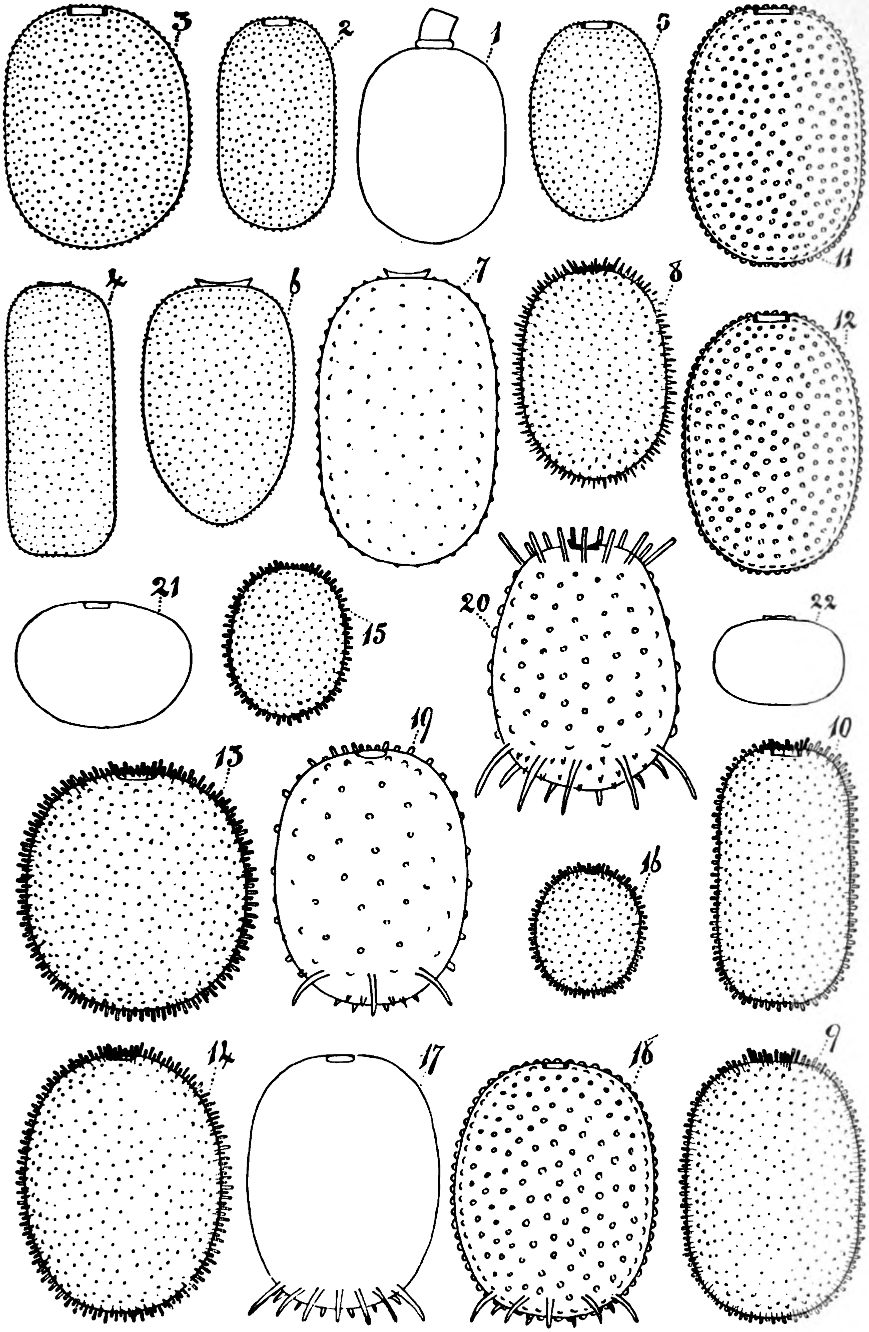
Figs. 5, 6.—*Trachelomonas urceolata* var. *ovalis*, n. var.
Figs. 7, 8. ,, ,, var. *Girardiana*, n. var.
Fig. 9. ,, *elegantissima* var. *ovata* mihi.
Fig. 10. ,, *napiformis*, n. sp.
Fig. 11. ,, ,, var. *elegans*, n. var.; (×660).
Fig. 12. ,, *sessilis*, n. sp.
Fig. 13. ,, ,, var. *minima*, n. var.; (×2000).
Fig. 14. ,, ,, var. *elegans*, n. var.; (×2000).
Fig. 15. ,, *triquetra*, n. sp.; *a*, end view.
Figs. 16-18. ,, *gibberosa*, n. sp.
Fig. 19. ,, ,, var. *rotunda*, n. var.
Figs. 20, 21. ,, *subglobosa*, n. sp.



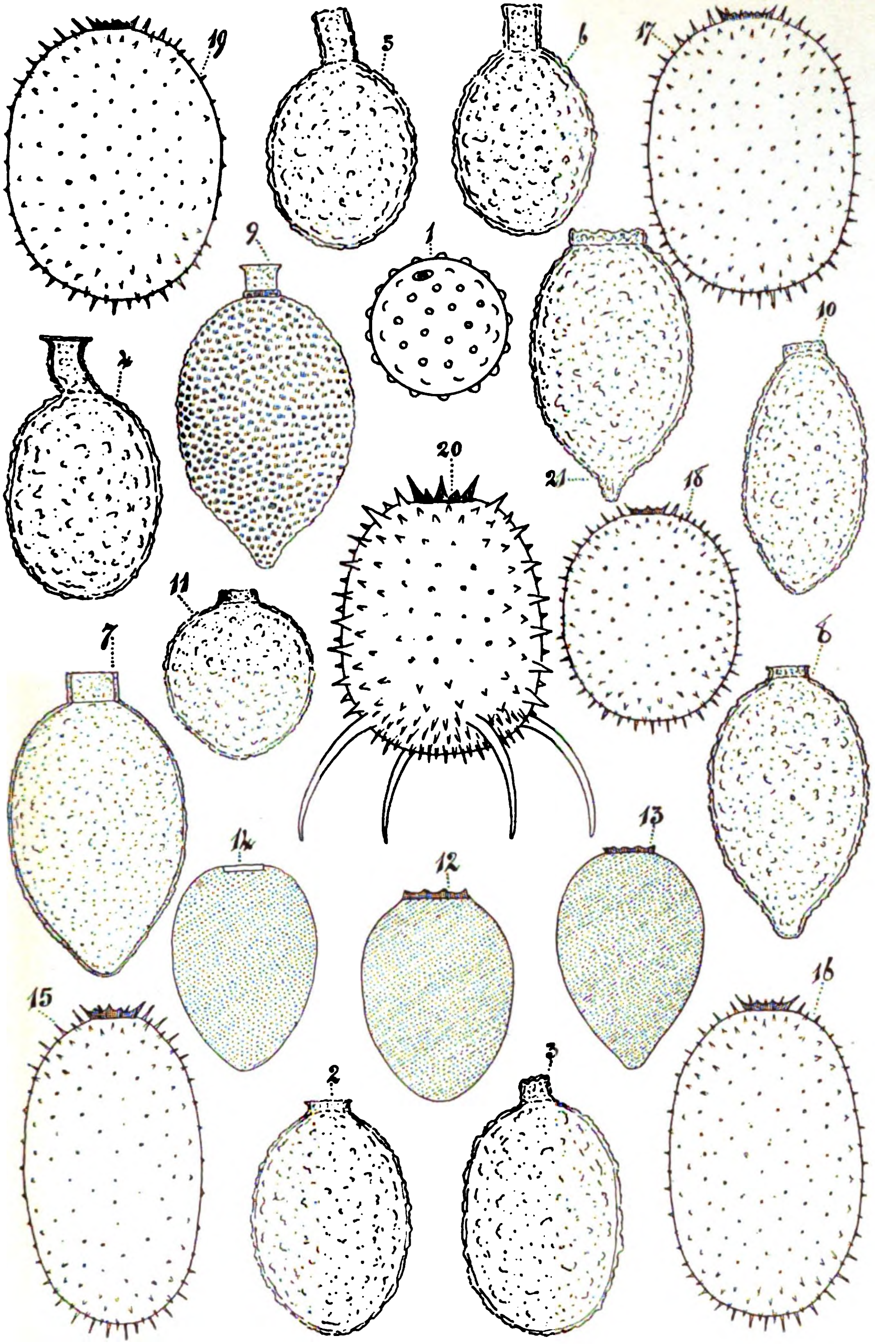
Forms of *Trachelomonas*.



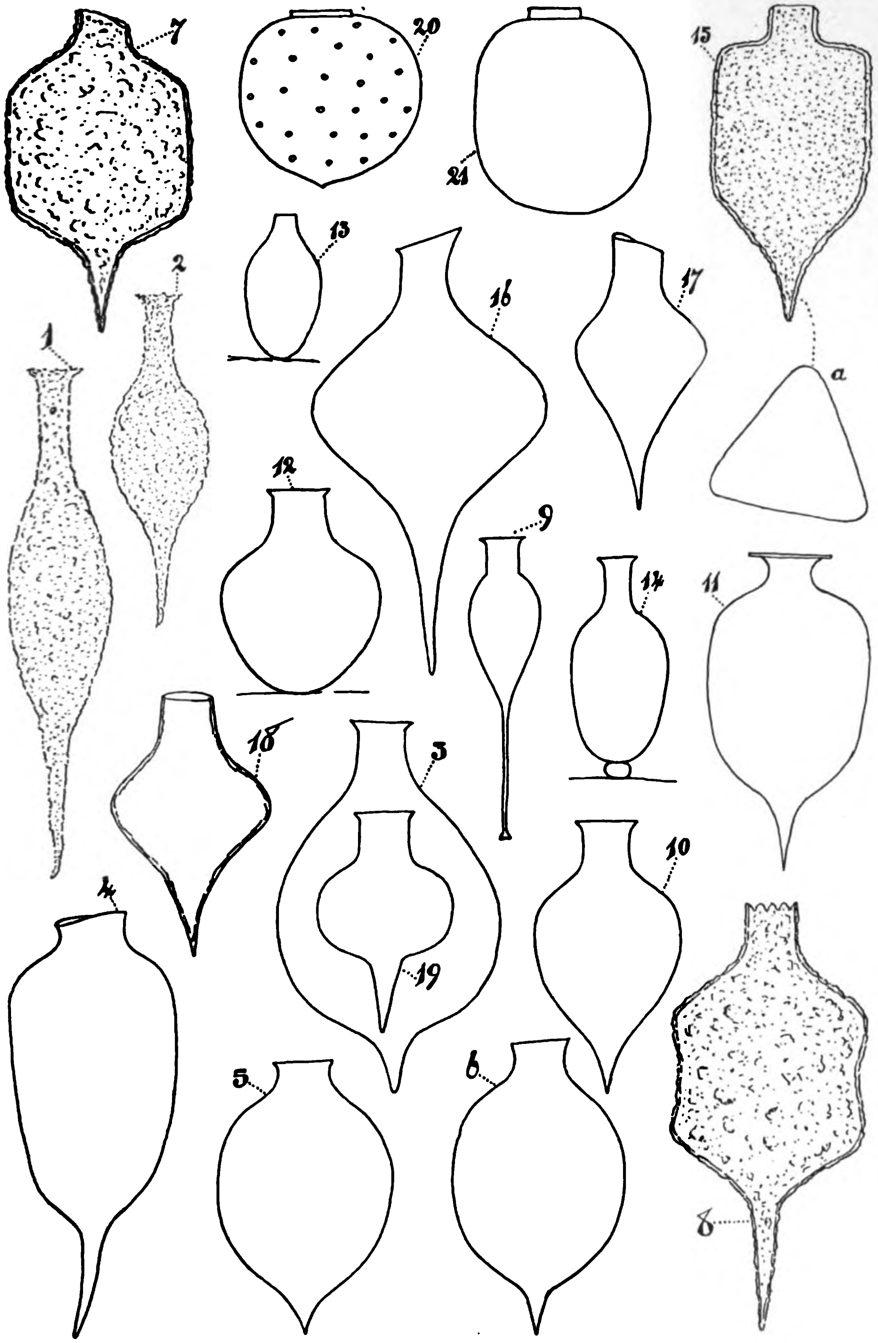
Forms of *Trachelomonas.*



Forms of *Trachelomonas*.



Forms of *Trachelomonas.*



Forms of *Trachelomonas.*